CONF.DR.CASIAN HELLENE

GENETICĂ

2010

CUPRINS

DEZVOLTAREA GENETICII CA ŞTIINȚĂ 3

1. 1. OBIECTUL GENETICII 4

1. 2. APARIȚIA ŞI DEZVOLTAREA GENETICII 4

2. EREDITATEA CARACTERELOR ÎN CAZUL MONOHIBRIDĂRII 6
2.1. TIPURI DE RELAȚII INTERALELICE LA MONOHIBRIDARE 7
2.3. ANALIZA CARACTERELOR LA POLIHIBRIDARE 15

2.3.3. INTERACȚIUNI ÎNTRE GENE NEALELE 23
EPISTASIA DE DOMINANȚĂ (12:3:1) 23
EPISTASIA DE RECESIVITATE (9:3:4) 23
EPISTASIA DE DOMINANȚĂ ŞI RECESIVITATE (13:3) 24

MECANISMUL CROMOZOMAL AL EREDITĂȚII 28

1. TEORIA CROMOZOMALĂ A EREDITĂȚII 28
1. 1. ÎNLĂNȚUIREA GENELOR DISPUSE ÎN ACELAŞI CROMOZOM (LINKAGE)28
1. 2. SCHIMBUL RECIPROC DE GENE (CROSSING- OVER-UL) 30

1.2.1. FACTORII CARE INFLUENȚEAZĂ 33

CROSSING - OVER-UL 33

2. ALCĂTUIREA HĂRȚILOR CROMOZOMALE 36

GENETICA CANTITATIVĂ 38

1. DETERMINISMUL GENETIC AL CARACTERELOR CANTITATIVE 38

2. SISTEME DE GENE MULTIPLE 41
2. 1. SISTEME DE GENE MULTIPLE CU EFECTE EGALE ŞI ADITIVE (MODELE POLIMERICE). 41
2. 2. SISTEME DE GENE MULTIPLE CU EFECTE INEGALE ŞI ADITIVE (MODELE ANISOMERICE). 42
2. 3. SISTEME DE GENE MULTIPLE CU EFECTE OPOZITIONALE 42

3. CONSANGVINIZAREA 43
3. 1. EFECTELE FENOTIPICE ALE CONSANGVINIZĂRII 43
3.2 EFECTELE GENOTIPICE ALE CONSANVINIZĂRII 43

4. HETEROZISUL 44

5. HIBRIDAREA TRANSGRESIVĂ (SEGREGAREA SAU VARIAȚIA TRANSGRESIVĂ) 46

DETERMINISMUL GENETIC AL SEXELOR48

2. DETERMINISMUL CROMOZOMIAL AL SEXULUI 48

3. DETERMINISMUL GENOMIAL AL SEXULUI 49

4. DETERMINISMUL GENIC AL SEXULUI 50

5. REGLAJUL GENETIC AL DIFERENȚIERII SEXELOR LA PLANTE 50
6. DETERMINISMUL SEXULUI LA PLANTELE DIOICE 50
7. DETERMINISMUL SEXELOR LA PLANTELE HERMAFRODITE ŞI MONOICE51
7.1. HORMONII VEGETALI ŞI EXPRESIA SEXULUI 52

8. FACTORI CARE INFLUENȚEAZĂ DETERMINISMUL GENETIC AL SEXELOR52

9. SEX - INFLUENȚARE **55**

10. SEX - LIMITARE **56**

11. EREDITATEA CARCTERELOR LEGATE DE SEX (SEX-LINKAGE) **56**
11. 1. EREDITATEA CARACTERELOR LEGATE DE SEX LA TIPUL *DROSOPHILA* 56
11. 2. EREDITATEA CARACTERELOR LEGATE DE SEX LA TIPUL ABRAXAS 58

RESTRUCTURĂRI CROMOZOMIALE 59

1. TIPURI DE RESTRUCTURĂRI ŞI EXAMINAREA LOR **59**
1. 1. SCHIMBĂRI ÎN NUMĂRUL DE GENE 60
1. 2. SCHIMBĂRI ÎN SUCCESIUNEA GENELOR 62

VARIABILITATEA NUMĂRULUI DE CROMOZOMI 66

1. TIPURI DE MUTAȚII ALE NUMĂRULUI DE CROMOZOMI **66**
1. 1. EUPLOIDIA 66
1. 2. ANEUPLOIDIA 73

BAZELE BIOCHIMICE ALE EREDITĂȚII 79

1. IDENTIFICAREA MATERIALULUI GENETIC **79**

2. ADN - MATERIAL GENETIC LA PROCARIOTE ŞI EUCARIOTE **79**

3. ARN – MATERIAL GENETIC LA RIBOVIRUSURI ŞI VIROIZI **81**

4. COMPOZIȚIA CHIMICĂ A ACIZILOR NUCLEICI **81**

5. STRUCTURA FIZICĂ A ACIZILOR NUCLEICI **83**
6. 1. ETAPELE PROCESULUI DE SINTEZĂ ADN 87

7. REPLICAȚIA ADN LA PROCARIOTE ŞI EUCARIOTE **89**

8. CODUL GENETIC ŞI CARACTERISTICILE SALE **90**

SINTEZA PROTEICĂ **92**

1. ROLUL GENETIC AL ACIZILOR NUCLEICI **92**

2. TRANSCRIPȚIA ŞI TIPURILE DE ARN **93**

3. TRANSLAȚIA **96**

***BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ* 99**

CAPITOLUL I

DEZVOLTAREA GENETICII CA ŞTIINȚĂ

1. 1. OBIECTUL GENETICII

Genetica este ştiința care studiază ereditatea şi variabilitatea organismelor. Genetica explică mecanismele de înregistrare, de modificare şi de transmitere a informației ereditare din generație în generație, precum şi procesul interacțiunii genotipului cu mediul.

Denumirea de genetică provine de la cuvântul grecesc *gennao* care înseamnă „a da naştere, a genera „. Termenul de genetică a fost introdus în biologie în anul 1906 de către W. Bateson la Conferința a III-a internațională de hibridare şi ameliorare a plantelor de la Londra.

Ereditatea *(hereditas* – a moşteni, lat.) este proprietatea organismelor de a da naştere unor descendenți asemănători lor. Mai poate fi definită ca fenomenul transmiterii din generație în generație a caracterelor sau procesul transmiterii informației genetice de la părinți la urmaşi. Unitatea elementară care condiționează transmiterea şi manifestarea caracterelor a fost numită *genă* în anul 1906 de către geneticianul danez W. Johannsen. Alături de genele care se află în cromozomi şi determină *ereditatea cromozomală*, există şi unități ereditare situate la nivelul citoplasmei, denumite *plasmagene*, care determină *ereditatea citoplasmatică*. Totalitatea factorilor ereditari ai unui organism poartă numele de *genotip*.

Genele şi plasmagenele au o mare stabilitate şi sunt capabile să se autoreproducă fidel (funcția autocatalitică a genei). În acest sens ereditatea constituie elementul conservativ al lumii vii.

Dacă se compară descendenții din cadrul unei rase, soi etc, se constată unele deosebiri între indivizi, dar şi față de părinți. În natură nu există doi indivizi identici, unicitatea fiind o caracteristică de bază a lumii vii. Aceasta înseamnă că organismele prezintă *variabilitate*.

Variabilitatea reprezintă proprietatea organismelor vii, cu diferite grade de înrudire, de a se deosebi între ele în plan morfologic, fiziologic, biochimic etc. Diferențele între indivizi pot fi determinate de mutații şi recombinări ale materialului genetic (variabilitate ereditară) şi de influența condițiilor de mediu (variabilitate neereditară). Totalitatea însuşirilor morfologice, fiziologice, biochimice şi de comportament ale unui organism poartă numele de *fenotip*.

1. 2. APARIȚIA ŞI DEZVOLTAREA GENETICII

Deşi genetica ca ştiință a apărut la începutul secolului al XX-lea, fenomenele ereditare au constituit una din preocupările vechi şi permanente ale omului.

În unele scrieri şi desene ale popoarelor antice (egipteni, indieni, asirieni, greci, romani etc) se găsesc indicații cu privire la selecția plantelor şi animalelor. O dovadă a acestor preocupări o reprezintă sculpturile egiptene vechi de 6000 de ani, în care sunt prezentate pedigreele mai multor generații de cai, cu indicații referitoare la modul cum se transmit la urmaşi forma capului şi a copitei.

În secolul XIX se intensifică interesul pentru ereditate şi începe elaborarea de teorii corpusculare. Una dintre primele teorii corpusculare a fost elaborată de Ch.Darwin în 1868 sub denumirea de *teoria pangenezei.* Conform acesteia, moştenirea caracterelor se realizează prin intermediul unor particule denumite *gemule*, care migrează din toate părțile organismului şi pe care sângele le transportă în celulele sexuale, ele transmițându-se în urma fecundării la urmaşi. Această concepție este o reînoire a teoriei panspermiei enunțate de Hippocrates.

Apogeul teoriilor corpusculare îl reprezintă *teoria plasmei germinative*, elaborată de August Weismann în perioada 1875 – 1876 şi definitivată în 1902. Această teorie susține că organismul este format din două părți deosebite calitativ : *soma* sau corpul şi substanța ereditară denumită *germoplasmă* sau *plasma germinativă.* Ea reprezintă substratul care prin intermediul celulelor sexuale asigură transmiterea ereditară a caracterelor.

Biologul şi matematicianul Gregor Mendel este considerat fondatorul şi părintele geneticii. El a efectuat cercetări bazate pe hibridari experimentale la mai multe specii : mazăre, porumb, fasole etc. Ca urmare a elaborat *teoria factorilor ereditari* conform căreia fiecare caracter al organismului este determinat de o anumită particulă materială denumită factor ereditar (genă), localizată în nucleu şi care se transmite la urmaşi prin intermediul gameților (celulelor sexuale). Modul de manifestare al caracterelor în generațiile F1, F2 şi în generațiile următoare, l-au determinat pe Mendel să emită concluzii universal valabile, ulterior au fost ridicate la rangul de *legi ale eredității.*

Apariția geneticii ca ştiință este determinată de trei biologi şi anume Hugo de Vries (1848 – 1935), Carl Correns (1864 – 1933) şi Erich Tschermac (1871 – 1962), care în anul 1900, au redescoperit independent concluziile lui Gregor Mendel.

Contribuții semnificative la dezvoltarea geneticii au avut experiențele lui Thomas Hunt Morgan şi colaboratorilor lui, care au efectuat cercetări la *Drosophila melanogaster* şi au emis trei teze : *plasarea liniară a genelor pe cromozomi; fenomenul de linkage complet* şi *fenomenul de linkage incomplet*.

În dezvoltarea geneticii moderne, rolul hotărâtor l-au avut cercetătorii americani O.T.Avery, C.M.MacLeod şi M.McCarty care descoperă rolul genetic al acidului dezoxiribonucleic (ADN) din cromozomi, explicând astfel fenomenul de transformare genetică la bacterii sesizat de F.Grifftch (1928).

În 1953, J.D.Watson, F.H.C.Crick şi M.H.F.Wilkins stabilesc modelul de alcătuire al ADN-ului, ceea ce a dus la impulsionarea cercetărilor privind acizii nucleici.

Mai târziu rezultatele se succed rapid, astfel s-a descoperit rolul şi structura ARN-ului, existența unui limbaj genetic – codul genetic, structura genelor, sinteza proteinelor şi reglajul genetic al sintezei proteice etc.

După anul 1970 s-au dezvolatat considerabil cercetările de *inginerie genetică*. Acest nou domeniu a dus la : izolarea şi sinteza artificială a genelor, transferul intra- şi interspecific al genelor, uneori chiar de la organisme procariote la cele eucariote şi viceversa, manipularea materialului genetic la nivel celular prin realizarea de haploizi prin androgeneză şi ginogeneză experimentală la plante, hibridarea între celule vegetale şi animale, alcătuirea hărților genetice la mai multe specii inclusiv pentru om (2005) etc.

Ingineria genetică are implicații profunde de ordin fundamental şi aplicativ, mai ales in crearea de noi forme vegetale şi animale de importanță economică, în realizarea de microorganisme capabile să sintetizeze aminoacizi, proteine, hormoni,vitamine, antibiotice etc, în realizarea terapiei genice cu importanță în medicina umană şi veterinară.

Putem concluziona pe baza celor prezentate marea importanță a geneticii şi faptul că genetica devine o necesitate nu doar pentru speciliştii din domeniul biologiei, agriculturii, medicinei.

CAPITOLUL II.
EREDITATEA CARACTERELOR CALITATIVE

1 EREDITATEA MENDELIANA

După cum este bine ştiut, multă vreme a persistat teoria moştenirii directe a caracterelor, care a avut adepți şi susținători până la sfârşitul secolului al XIX – lea. În plus, ea a fost modificată şi adaptată la unele teorii corpusculare ale eredității, în sensul că toate particulele materiale din diferite părți ale organismului migrează în gameți prin care apoi, se transmit la urmaşi.

Deşi hibridarea se practică de foarte multă vreme (practic odată cu introducerea în cultură a plantelor), iar cercetările de hibridare dirijată la numeroase specii s-au înmulțit în secolele al XVIII – lea şi al XIX – lea, nu s-a reuşit schimbarea profundă a concepțiilor despre ereditate. Uneori, cercetătorii au efectuat hibridări chiar la mazăre cu mult timp înaintea lui Mendel, dar nu au putut explica şi interpreta rezultatele experiențelor, rezumându-se la simple constatări.

Primele experineţe de hibridare la diferite specii de plante au fost începute de Mendel în anul 1857, în grădina mânăstirii din Brunn (astăzi Brno din Slovacia). Astfel, el a efectuat încrucuşări la numeroase specii de plante ca: *Pisum, Phaseolus, Zea, Anthirhinum, Melandrium, Ipomoea, Verbascum, Hieracium,* etc., preferând în mod deosebit mazărea care oferă o serie de avantaje.În 1865 prezintă rezultatele experimentale şi concluziile la care a ajuns, la două conferinţe ale Societăţii de Istorie Naturală din Brunn. Comunicările au fost publicate într-o lucrare de 48 pagini în anul 1866 în analele societăţii, sub titlul: "Versuche uber Pflanzenhybriden" ("Cercetările privind hibridarea plantelor").

Gregor Mendel 1822-1886

Deşi rezultatele cercetărilor lui G. Mendel au fost publicate într-o revistă de prestigiu şi de mare circulaţie, nu au produs senzaţie în lumea biologilor de atunci, care pe de o parte nu au putut sesiza esenţa şi importanţa descoperirilor, iar pe de altă parte Mendel era considerat un cercetător amator. Astfel, concluziile lui Mendel au rămas nerecunoscute pana în anul 1900, când au fost descoperite şi ridicate la rangul de legi ale eredităţii, moment care marchează apariţia ***geneticii*** ca ştiinţă.

În concepţia geneticii clasice ***caracterele mendeliene*** (calitative) sunt acelea care prezintă fenotipuri distincte (contrastante) şi sunt controlate de **gene majore** (mendeliene) după regula **" *o genă – un caracter* "** (condiţionare monogenică). Unele gene majore au efecte ***pleiotropice***, adică o genă controlează simultan mai multe caractere calitative, ceea ce reprezintă, evident, o abatere de la regula generală amintită mai sus.

În F_1 toate plantele hibride sunt uniforme, având acelaşi fenotip. În F_2, caracterele calitative segregă în clase discontinue, cu fenotipuri distincte şi usor detectabile, datorate ambelor alele. Marea majoritate a caracterelor calitative au heritabilitatea mare, fiind puţin influenţate de mediu. Aceasta conferă selecţiei posibilităţi mari în detectarea indivizilor cu caractere dorite.

2. EREDITATEA CARACTERELOR ÎN CAZUL MONOHIBRIDĂRII

În studiul eredităţii şi variabilităţii se foloseşte pe scară largă ***metoda hibridologică.*** Această metodă a permis lui Gregor Mendel să formuleze principalele legi ale eredităţii şi să pună bazele geneticii, ca ştiinţă biologică.

În cercetările sale, Mendel a folosit cu precădere mazărea, plantă anuală care oferă numeroase avantaje pentru studiul eredităţii si variabilităţii caracterelor calitative:

- având flori hermafrodite cu polenizare strict autogamă (cleistogamă), mazărea s-a dovedit un "obiect" potrivit pentru analizele genetice, folosind la incrucişare forme pure din punct de vedere genetic;
- fiind o plantă anuală se pot urmări relativ repede descendenţele în generaţii succesive;
- structura morfo – anatomică a florii permite realizarea cu destulă uşurinţă a hibridări sexuale;
- mazărea are numeroase soiuri (varietăţi care se deosebesc prin unul sau mai multe caractere contrastante).

Mendel a folosit pentru încrucişare 22 de soiuri pure (din cele 34 luate în studiu), la care s-au luat în considerare 7 caractere alelomorfe (forma bobului, culoarea bobului, forma păstăii uscate, culoarea păstăii necoapte, culoarea cotiledoanelor, poziţia florilor pe plantă şi lungimea tulpinii).

Înainte de a descifra determinismul genetic al caracterelor şi mecanismele de transmitere ale acestora la urmaşi, considerăm că este util să definim, câţiva termeni de bază, folosiţi frecvent în explorarea acestor fenomene.

Hibridarea reprezintă metoda care permite obţinerea de plante hibride (hibrizi). Ea constă în principal, în două operaţii: ***castrarea*** formei mamă şi ***polenizarea*** cu polen de la forma tată.

Hibridul reperezintă un organism rezultat prin hibridarea (încrucişarea) a doi sau mai mulţi genitori (părinţi) diferiţi prin anumite caractere. Hibridul întruneşte caractere de la părinţi folosiţi la

încrucişare. Părintele mamă se notează cu ♀, iar părintele tată cu ♂. Părinţii se notează cu P_1 şi, respectiv P_2, iar generaţiile hibride (filiaţiile) cu F_0, F_1, F_2,....., F_n.

Încrucişarea unor forme parentale care se deosebesc printr-o singură pereche de caractere se numeşte ***monohibridare***, iar încrucişarea unor indivizi care se deosebesc prin două sau mai multe perechi de caractere se numeşte ***dihibridare*** şi, respectiv, ***polihibridare***

Schematic, realizarea unei hibridări sexuale se prezintă astfel:

Anul I (F_0) P_1 x P_2

↓

Anul II F_1

în care
P_1 şi P_2 = părinţii (genitorii)
F_0 = generaţia în care se face hibridarea

F_1 x F_1

↓

Anul III F_2

F_1 = prima generaţie hibridă
F_2 = a doua generaţie hibridă

Mendel a observat că majoritatea caracterelor studiate la soiurile de mazăre au două forme distincte de manifestare, adică opuse sau contrastante. Aceste forme de manifestare alternativă ale aceluiaşi caracter au fost denumite ulterior ***alele***. Unele caractere prezintă mai mult de două forme alternative de manifestare, reprezentând fenomenul de ***alelism multiplu***. La organismele diploide există pentru fiecare caracter (factor ereditar) doua alele, care pot fi de acelaşi fel şi indivizii sunt puri sau pot fi diferite şi indivizii sunt impuri. În acest caz, la indivizii impuri (heterozigoţi) între cele două alele pot apare diferite relaţii, atât între alelele mutante din cadrul unei serii de alele multiple. Mai jos, prezentăm principalele relaţii alelice în cazul monohibridării, unele dintre ele, fiind observate şi explicate de Mendel.

2.1. TIPURI DE RELAŢII INTERALELICE LA MONOHIBRIDARE

2.1.1 DOMINANŢĂ ŞI RECESIVITATE (DOMINANŢĂ TOTALĂ)

Dacă fenotipul unui heterozigot se datorează numai uneia dintre alele înseamnă că între cele două alele există o relaţie de dominanţă – recesivitate (dominanţă totală sau completă). În acest caz hibridul F_1 (Aa) are acelaşi fenotip cu părintele homozigot dominant (AA) sau altfel spus, Aa = AA (din punct de vedere fenotipic).

Exemplu*:** Încruşând două soiuri pure de mazăre, unul cu boabe galbene şi celălalt cu boabe verzi, Mendel a obţinut în F_1 numai plante cu boabe galbene. Acest caracter l-a denumit ***dominant, în timp ce caracterul pereche care nu s-a manifestat l-a denumit ***recesiv***.

Cu această ocazie, Mendel a constat uniformitatea plantelor hibride în F_1.

Prin autopolenizarea plantelor din F_1 a obţinut în generaţia a doua (F_2), atât plante cu boabe galbene, cât şi plante cu boabe verzi, în proporţie de 3:1. Acest fenomen constatat în F_2 a fost denumit de Mendel ***segregare sau disjuncţia caracterelor (genelor).***

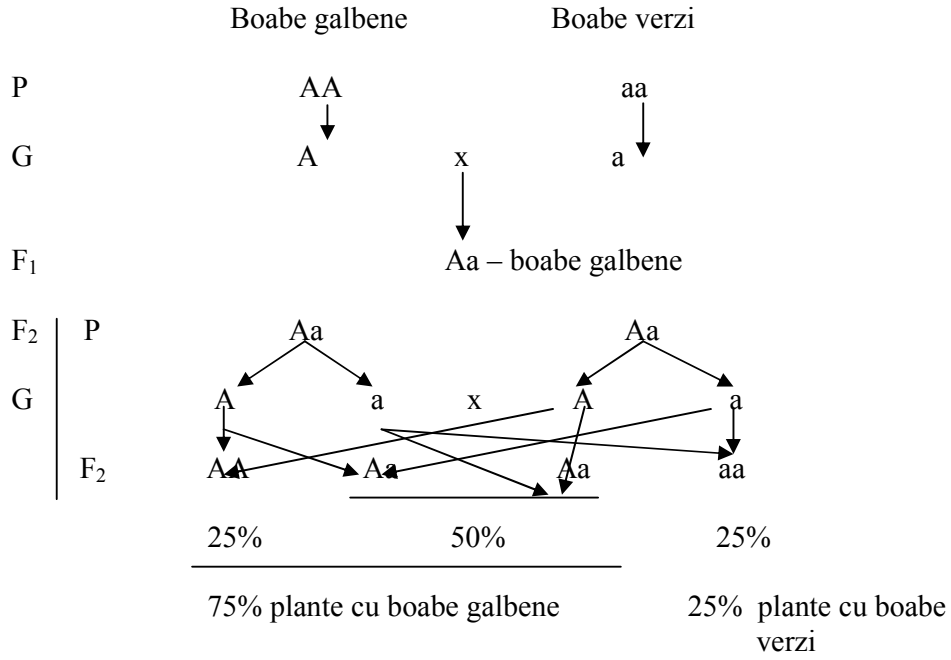
Mendel a explicat segregarea prin prezenţa sub forma de pereche a fiecărui factor ereditar (genă) în celulele parentale şi separarea acestora în timpul meiozei, când fiecare gamet primeşte numai un singur factor ereditar (gena) din perechea respectivă, întrucat părinţii sunt puri, fiecare părinte va produce un singur tip de gameti. Gameţii se unesc în timpul fecundării şi rezultă plante hibride (F_1) în care factorii ereditari (genele) se alatura din nou în perechi. Cand plantele hibride din F_1 formeaza la randul lor gameţi, factorii ereditari se separă din nou, rezultând de data aceasta două tipuri de gameţi. Prin unirea la întamplare a gameţilor rezultaţi, dar cu aceeaşi probabilitate, se obţine generaţia a adoua de indivizi (F_2) cu patru combinaţii de factori, la care se constată segregarea factorilor ereditari în două grupe fenotipice (3:1) şi trei grupe genotipice (1:2:1).

Plantele care posedă un singur tip de factori ereditari (alele) sunt pure din punct de vedere genetic şi se numesc ***homozigote*** (AA = homozigote dominante şi aa = homozigote recesive). Plantele hibride din F_1 posedă ambii factori ereditari (alele) şi se numesc impure sau ***heterozigote*** (Aa). La plantele heterozigote se manifestă numai caracterul dominant (A), în timp ce caracterul pereche recesiv (a) rămane în stare ascunsă. În felul acesta, Mendel a definit noţiunea de fenotip, care exprimă însuşirile morfologice, fiziologice, biochimice şi de comportament ale unui organism (individ) şi noţiunea de genotip care reprezintă totalitatea factorilor ereditari (genelor) continuţi de un organism.

Simbolizarea alelelor dominanate se poate face cu majusculă (A), care indică iniţiala carcterului (aşa cum s-a procedat mai sus) sau cu minusculă, indice + (a^+) sau numai cu semnul +.

Alelele recesive se notează de regulă cu minusculă (a) sau după caz, cu semnul " –".

Fig. 2.1.Schema unei monohibridări pe baza de dominanţă şi recesivitate



În figura 2.1. se prezintă schematic monohibridarea din exemplul anterior privind încrucişarea dintre mazărea cu boabe galbene şi cea cu boabe verzi, între care există relaţii de dominanţă şi recesivitate, cunoscută sub denumirea de monohibridarea de tip "Pisum" sau cu dominanţă totală. Dacă se notează cu A caracterul dominant (boabe galbene) şi cu caracterul recesiv (boabe verzi) în condiţiile în care genitorii sunt homozigoţi, atunci schema monohibridarii la mazăre pentru toate cele 7 caractere (sub formă de perechi alelomorfe), analizând pe un număr mare de plante comportarea acestora în generaţia F_1 şi F_2. La toate monohibridările efectuate el a constatat raporturi de segregare fenotipică foarte apropiate de 3:1.

Mai târziu, s-au făcut monohibridari similare şi la animale, păsări, etc., rezultând în F_1 indivizi uniformi, iar în F_2 o segregare fenotipică în raportul de 3:1. Astfel, L. Cuenot a încrucişat şoareci cenuşii cu şoareci albi, rezultând în F_1 numai şoareci cenuşii. Prin încrucişarea şoarecilor cenuşii din F_1, au rezultat în F_2 75% şoareci cenuşii şi 25% şoareci albi. Rezultatele similare au rezultat la încrucişarea taurinelor fară coarne cu taurine cu coarne. În F_1 toţi indivizii sunt fără coarne, iar în F_2 se obţin 3 părţi indivizi fără coarne şi 1 parte indivizi cu coarne.

Pe baza analizei generației F_1 şi, respectiv F_2, în cazul monohibridarii, Mendel a tras două concluzii esențiale, care după redescoperire şi verificare au devenit primele doua legi ale eredității, şi anume:

1. **Legea segregării sau disjuncției genelor în generația a doua (F_2)**

După cum se ştie, prin analiza generației F_2 la dihibridare şi polihibridare, Mendel a desprins a doua concluzie, care ulterior a devenit a doua lege a ereditații, pe care o enunțăm anticipat pentru a sesiza esența mendelismului:

2. **Legea combinării libere a genelor sau a segregării independente a caracterelor** (apariție la di- şi polihibridare a unor combinații noi de gene la descendenții din F_2).

Din schema prezentată rezultă în F_2 două raporturi de segregare, şi anume:

- raportul fenotipic de 3:1:
- raportul genotipic de 1 AA : 2 Aa : 1 aa.

Prin autofecundarea generației a doua (F_2) se obține generația F_3, la care se observă că din plantele pure cu boabe galbene (AA) rezultă numai plante cu boabe galbene, din cele pure cu boabe verzi se obțin numai plante cu boabe verzi şi din plante impure cu boabe galbene (Aa) se obțin atat plante cu boabe galbene cat şi plante cu boabe verzi în proporție de 3:1.

Întrucat raportul de segregare fenotipic de 3:1, diferă de raportul de segregare genotipic de 1:2:1, rezultă că cele două genotipuri diferite (AA, Aa) determină acelaşi fenotip, respectiv culoarea galbenă a boabelor. Fiind cunoscut faptul că transmiterea caracterelor la urmaşi este determinată de genotip, Mendel a considerat că este necesar să se determine genotipurile la monohibrizii cu acelaşi fenotip. Astfel, s-au elaborat o serie de metode care permit determinarea genotipului, dintre care prezentăm:

Testcross-ul (încrucişarea analizatoare)

Este tipul de încrucişare care permite să se determine genotipul unor indivizi care au acelaşi fenotip (în cazul relațiilor de dominanță şi recesivitate). Părintele folosit ca tester este întotdeauna homozigot recesiv pentru toate genele studiate.

Un homozigot produce întotdeauna un singur tip de gameți, iar un heterozigot monohibrid produce două tipuri de gameți cu aceeaşi frecvență.

Determinarea structurii genetice a unui monohibrid se face prin analiza descendenței din F_1 (raportul de segregare), care permite să se determine indirect numărul de gameți al individului testat şi respectiv, genotipul acestuia.

Exemple: a) O plantă de mazăre cu boabe galbene se încrucişează cu o plantă cu boabe verzi (caracter recesiv) şi dă naştere în F_1 la plante cu boabe galbene:

	galbene		**verzi**
P	**A -**		**aa**
	(genotip necunoscut)	**x**	**(părinte recesiv folosit ca tester cu genotip cunoscut)**
G	**A şi ?**		**a**
F_1		**Aa**	
		boabe galbene	

Întrucat a rezultat în F_1 numai un singur fenotip, înseamnă că individul testat produce numai un fel de gameți (A) şi este obligatoriu homozigot dominant în caracterul analizat (AA).

b) Considerăm cazul cand o plantă cu boabe galbene se testează cu o plantă cu boabe verzi şi rezultă plante cu boabe galbene şi plante cu boabe verzi în proporție de 1:1 sau 50%:50%.

	galbene		verzi
P	**A -**		**aa**
	(genotip necunoscut)	**x**	**(părinte recesiv folosit ca tester cu genotip cunoscut)**
G	**A şi ?**		**a**
F_1	**Aa**		**aa**
	boabe galbene		**boabe verzi**

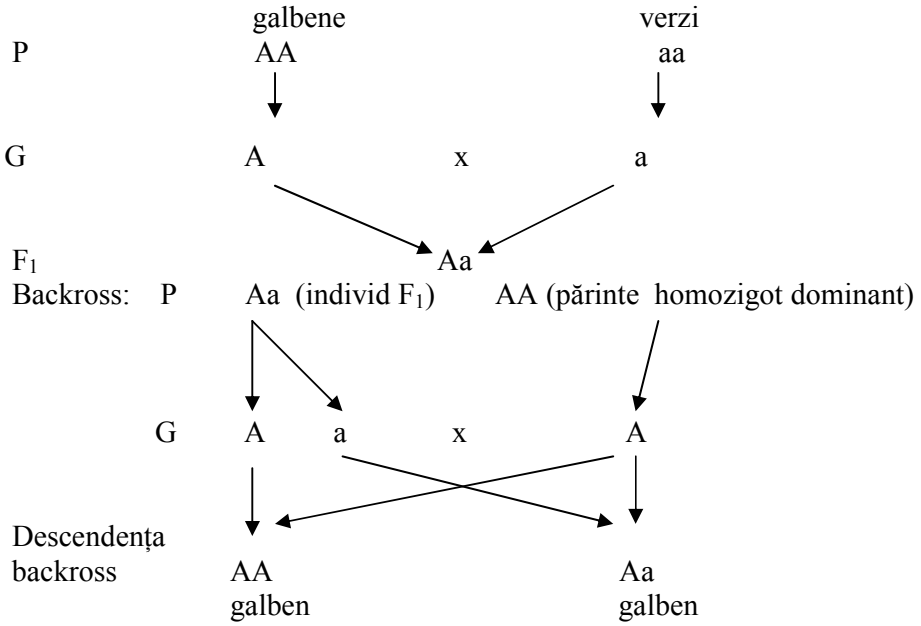
1 : 1

În acest caz individul (planta) testată este heterozigotă (Aa) întrucat în F_1 au rezultat două fenotipuri, indicând faptul că el a produs două tipuri de gameți, respectiv A şi a.

Backross-ul

Încrucişarea unui individ F_1 cu unul din părinți se numeşte backross. Uneori în literatura de genetică, backrossul este utilizat în acelaşi sens ca testcross- ul.

Referindu-ne la exemplul de mai sus (folosit la testcross), prezentăm încrucişarea backross în felul următor:



Backross-ul poate fi folosit la determinarea unor genotipuri noi în cazul cand părintele dominant (testerul) este sigur homozigot şi se face autofecundarea descendenței backross. În cazul în care nu rezultă segregare, individul cu fenotip dominant testat este homozigot, iar în caz contrar este heterozigot.

2.1.2 SEMIDOMINANȚA (DOMINANȚA INCOMPLETĂ)

Este o relație alelică interalelică în care heterozigotul din F_1 (Aa) are un fenotip intermediar între cei doi părinți heterozigoți. Fiecare alelă este responsabilă de un anumit grad de expresie fenotipică față de cealaltă alelă. Este important de reținut faptul că deşi formele heterozigote par să fie un amestec de fenotipuri ale părinților homozigoți, fiecare alelă păstrează identitatea sa şi segregă normal în meioză. Cu alte cuvinte, nu este vorba în nici un caz de alele "mixte".

Simbolizarea în cazul semidominanței se face printr-o literă care îndică gena considerată şi cu câte un indice pentru fiecare alelă.

Acest tip de monohibridare este cunoscută şi sub denumirea de "Zea", dată fiind descoperirea sa pentru prima dată la porumb.

Exemplu: la încrucişarea unei varietăţi de porumb cu boabe albastre (C^A C^A) cu o varietate cu boabe galbene (C^G C^G) au rezultat în F_1 plante hibride cu boabe violet
(C^A C^G). În F_2, s-a produs segregarea în proporţie de 1 albastru (C^A C^A) : 2 violet (C^AC^G) : 1 galben (C^G C^G).

Un fenomen similar de semidominanţă s-a observat la încrucişarea unor soiuri de gura leului, barba împăratului, etc.

2.1.3. SUPRADOMINANŢA

Este un fenomen de relaţie interalelică, în care un individ în stare heterozigotă (Aa) determină o sporire sau o intensificare a fenotipului faţă de indivizii homozigoţi de tip parental (Aa > AA > aa). Acest fenomen este mai pregnant în cazul unor caractere cantitative ca: talia, fertilitatea, vigoarea, etc, având importanţă în apariţia heterozisului.

2.1.4 CODOMINANŢA

Studiul sistemului sangvin la om a permis să se determine patru grupe de sânge notate cu A, B, AB şi 0, controlate genetic de locului I cu trei alele multiple, şi anume: I^A (alela pentru producerea aglutinogenului A), I^B (alela pentru aglutinogenul B) şi I^0 (alela pentru lipsa aglutinogenilor). Pentru grupa A s-au pus în evidenţă încă două subgrupe mai importnate A_1 şi A_2 (Levine 1945).

Alelele I^A şi I^B sunt dominate asupra alelei I^0, iar când se gasesc împreună la acelaşi individ sunt ***codominante***, determinând un fenotip nou şi, respectiv grupa sangvina AB. Ca urmare, indivizii pot fi fenotipic şi genotipic de următoarele tipuri (facând abstracţie de cele 2 subgrupe ale grupei A):

Grupa sangvina (fenotipul)	Genotipul
A	I^A I^A sau I^A I^0
B	I^B I^B sau I^B I^0
AB (codominanta)	I^A I^B
0	I^0 I^0

Cunoaşterea acestor relaţii alelice este necesară pentru realizarea transfuziilor de sânge (persoanele cu grupa 0 sunt donatori universali, iar persoanele cu grupa AB sunt primitori universali; persoanele cu grupa sangvină A primesc sange de la A şi 0, persoanele cu grupa sangvină B de la B şi 0, iar 0 numai de la 0) şi in stabilirea paternităţii în cazuri de litigii. Cunoscând grupa sangvină a copilului şi a mamei se pot cunoaşte grupele sangvine ale tatălui prezumtiv.

Exemplu: Când copilul are grupa A şi mama 0, tatăl nu poate avea decât grupa A (homozigot sau heterozigot) sau grupa AB.

2.1.5 LETALITATE

Anumite alele nu se manifestă decât prin moartea individului inainte de maturitate în perioada prenatală sau postnatală. Asemenea alele au fost denumite ***letale***. O alelă letală dominantă poate determina moartea individului în stare homozigotă (LL) şi, uneori chiar în stare heterozigotă (Ll); ea se elimină din populaţie în momentul cand apare în constituţia unui individ. O alelă letală recesivă determină moartea individului numai în stare homozigota (ll). Dupa caz, indivizii heterozigoti sunt în aparenţă normali sau pot manifesta unele deficienţe, care însă nu le afectează viabilitatea.

Exemple: a) Studiul unor şoareci galbeni a arătat că ei sunt întotdeauna heterozigoţi, deoarece la încrucişarea lor rezultă o descendenţă în proporţie de 2 şoareci galbeni : 1 şoarece de altă culoare.

Din segregare, şoarecii galbeni lipsesc, deoarece ei mor încă din stadiul embrionar. Rezultă urmatoarele genotipuri şi fenotipuri:

Genotipul	Fenotipul	Raportul de segregare
LL	galbeni (letali)	
2Ll	galbeni (viabili)	2 : 1
ll	altă culoare (viabili)	

b) Cantitatea de clorofilă la *Anthirrhinum* este controlată de o genă la care alela recesivă este letală. În descendenţă pot apare urmatoarele genotipuri şi fenotipuri:

Genotipul	Fenotipul	Raportul de segregare
CC	verde (normale)	
2Cc	verde deschis (normale)	3 : 0
cc	albe(letale)	

În acest caz, rezultă practic un raport de segregare de 3:0, în loc de 3:1.

Genele letale pot fi clasificate după diferite criterii, şi anume:

a. După celulele în care apar:
- *gametice*, când gameţii cu gene letale sunt neviabili;
- *zigotice*, când zigotul cu gene letale este neviabil.

b. După cromozomii în care apar:
- *autozomale*, când se află pe autozomi;
- *heterozomale*, când se află pe cromozomii sexului.

c. După gradul de letalitate (penetrantă) al indivizilor:
- *letale propriu-zise*, când se produce moartea tuturor indivizilor:
- *semiletale*, când circa 50% din indivizi mor;
- *subletale*, când pier circa 30% din indivizi.

Uneori letalitatea poate fi consecinţa sterilităţii cel puţin a unuia dintre sexe, când poate duce la dispariţia unei specii. Pe această cale, în S.U.A. (Knipling 1958) a sterilizat masculii insectei *Callitroga hominivorax* (ale cărei larve produceau orificii în pielea animalelor şi diminua ritmul de creştere al acestora), prin iradierea masculilor cu doze de 2500 rad. Prin eliberarea repetată a acestora în natură (a acelora care nu şi-au pierdut capacitatea de împerechere) în numar mare, s-a eliminat în cateva generaţii specia respectivă.

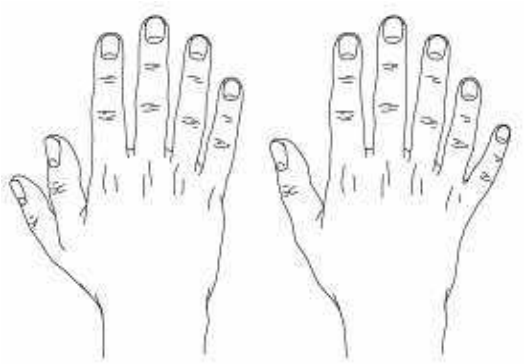
2.2. PENETRANŢĂ ŞI EXPRESIVITATE

În condiţii diferite de mediu, doi indivizi cu alele identice pentru acelaşi locus pot prezenta fenotipuri diferite. Capacitatea unei gene sau a unui grup de gene de a se exprima fenotipic în condiţii determinate de mediu se numeşte penetrantă, iar gradul de exprimare al fenotipului se numeşte expresivitate.

Exemple:

a) La om, polidactilia (aparţia de degete suplimentare) este determinată de prezenţa genei dominante P. Pentru fenotipul normal corespunde genotipul pp. Cu toate acestea, indivizii cu genotipul Pp nu prezintă polidactilie. În acest caz, penetranţa genei P este mai mică de 100%.

b) Polidactilia se poate exprima numai la maini şi nu la picioare. Este vorba de o expresivitate diferită.



Polidactilia la mâini

2.3. RELAȚIILE DINTRE GENE ŞI MEDIU

Acestea pot provoca modificări foarte variate atât de ordin calitativ, cât şi cantitativ. Diversitatea factorilor de mediu şi mai ales intensitatea cu care acționează asupra organismelor în anumite etape ale dezvoltării acestora, pot influența în mod foarte diferit manifestarea unor gene. Cateva exemple în acest sens sunt edificatoare: plantele de *Primula* crescute la temperaturi de 30-37 ^{o}C şi umiditate mare, produc floi albe, iar la temperaturi sub 30 ^{o}C produc flori roşii; plantele mutante de porumb cu port pitic tratate cu hormoni (gibereline) se dezvoltă normal şi au talie înaltă; iepurele de Himalaia crescut la temperaturi de peste 30 ^{o}C devine complet alb, iar la temperaturi de 24-26 ^{o}c capată culoarea neagră la extremitatea cozii, picioarelor, urechilor şi botului.

Unele gene au manifestare foarte diferită la factorii de mediu, fiind afectați numai o parte din indivizi, deşi au acelaşi fenotip.

O serie de gene sub influența unor factori de mediu manifestă fenotipuri similare altor gene, denumite ***fenocopii***.

2.4 SISTEME PLURIALELE (ALELE MULTIPLE)

Pentru o genă sunt posibile, în mod teoretic, un număr relativ mare de alele. Atunci când la acelaşi locus sunt identificate mai mult de două alele este vorba de o serie de alele multiple sau de o serie plurialelica. Nu trebuie omis faptul că un individ normal nu poate avea mai mult de două alele diferite sau de acelaşi fel pentru o anumită genă sau locus (câte una pe fiecare cromozom homolog).

Între alelele unei gene pot exista relații de dominanță completă, semidominanță sau codominanță. Cele mai frecvente sunt relațiile alelice de dominanță şi recesivitate.

Pentru simbolizarea alelelor multiple trebuie mai întâi cunoscută ierarhia de dominanță. Alela dominanță din cadrul seriei este notată cu majusculă, în timp ce alelele recesive sunt notate cu aceeaşi literă, dar este minusculă, însoțită de diferiți indici.

Exemple:

a) *culoarea ochilor la Drosophila* este guvernată de o serie de alele multiple, variind de la roşu(tipul sălbatic, notat cu w^{+} sau W) pana la alb(tipul mutant fară pigment, notat cu w). În cadrul seriei plurialelice, fiecare alelă(cu excepția lui w) produce pigment, însă din ce în ce mai puțin pe masură ce se avansează către alela complet recesivă (w) față de toate celelalte. Ierarhia de dominanță este urmatoarea: $w^{+} > w^{co} > w^{bl} > w^{e} > w^{ch} > w^{a} > w^{h} > w^{bh} > w^{t} > w^{p} > w^{i} > w$. Alela de tip sălbatic w^{+} este dominantă față de toate celelalte alele ale seriei, iar alela w este recesivă față de toate celelalte alele din serie. Genotipurile heterozigote între diferitele alele recesive prezintă fenotipuri intermediare.

b) *Tipurile de grupe sangvine la om* este un exemplu clasic de alelism multiplu. Alela I^{A} este codominată cu alela I^{B}, iar alela I^{0} este recesivă față de acestea. Relațiile între aceste alele se noteaza astfel: $(I^{A} = I^{B}) > I^{0}$.

c) *Seria de alele multiple „albino" la iepuri*, la care blana prezintă urmatoarele culori: c^+c^+ = agouti – tipul sălbatic -, $c^{ch}c^{ch}$ = gri – tipul Chinchilla - , c^hc^h = albă cu extremitățile de culoare neagră – tipul Himalaia şi cc = albă – tipul albino.

La încrucişarea tipului sălbatic c^+c^+ cu toate celelalte tipuri ($c^{ch}c^{ch}$, c^hc^h, cc) în F_1 s-a manifestat culoarea agouti (brună) a tipului sălbatic, iar în F_2 s-a obținut un raport de segregare de 3:1 în toate cazurile. Aceasta demonstrează că este vorba de alele ale aceluiaşi locus şi că între ele există relația de dominanță – recesivitate. Pe baza încrucişărilor între diferitele tipuri de alele s-a stabilit urmatoarea ierarhie de dominanță: $c^+c^+ > c^{ch}c^{ch} > cc$.

d) *seria de alele multiple "agouti"*. La mamiferele rozătoare culoarea părului prezintă o serie de 5 alele, dintre care 2 alele sunt dominante față de tipul sălbatic "agouti", iar două alele sunt recesive. Prin mutații succesive ale locusului a^+ (agouti) au aparut 4 alele simbolizate astfel: A^Y = galben, care în stare homozigotă este letală, A^L = agouti cu abdomen alb, a^t = negru pe spate şi bronzat pe abdomen şi a = negru. Pe bază încrucişărilor între diferitele tipuri de alele s-au stabilit urmatoarele ierarhii de dominantă – recesivitate: $A^L > a^+ > a^t > a$; $a^+ > a^t > a$, iar A^Y este dominantă față de toate alelele. Deoarece alela A^Y este vizibilă numai în stare heterozigotă, la încrucişarea cu orice tip de alela în stare homozigotă, rezultă în F_1 un raport de segregare de 1:1, la încrucişările între heterozigoții care conțin alela A^Y rezultă în F_1, un raport fenotipic de 2:1, deoarece homozigoții de A^YA^Y sunt letali.

e) *Serii de alele multiple la plante*. La numeroase specii de plante pentru anumite caracatere sunt implicate serii de alele multiple. Astfel, la trifoiul alb la locusul v (alele inițială, recesivă) există 8 alele dominante care produc pete albe pe frunze de diferite forme şi mărimi. La porumb, s-a identificat la locusul R o serie de peste 12 alele, atat dominante, cât şi recesive, care controlează pigmentația pericarpului şi aleuronei.

2.5. MECANISMUL CITOLOGIC AL SEGREGĂRII GENELOR

Gregor Mendel a considerat factorii ereditari particule materiale independente care în celulele mamă (parentale) se găseau sub formă de pereche, iar în gameți cate un singur factor ereditar din perechea inițială, după repartizarea acestora la cei doi poli în timpul meiozei. Segregarea factorilor se realizează odata cu formarea gameților, în combinarea lor în timpul fecundării prin întalnirea la întamplare a acestora.

După descoperirea faptului că factorii ereditari (genele) sunt dispuşi în cromozomi, cauzele segregării au fost asociate cu separarea şi repartizarea cromozomilor în diferite combinații, din celulele mamă (2n) în gameți (n) în timpul diviziunii meiotice. Prin fecundarea gameților se reface numărul diploid de cromozomi (2n) şi respectiv, perechile de cromozomi, dar în combinații diferite datorită asocierii întamplătoare a cromozomilor cu ocazia migrării lor în gameti (dansul cromozomilor).

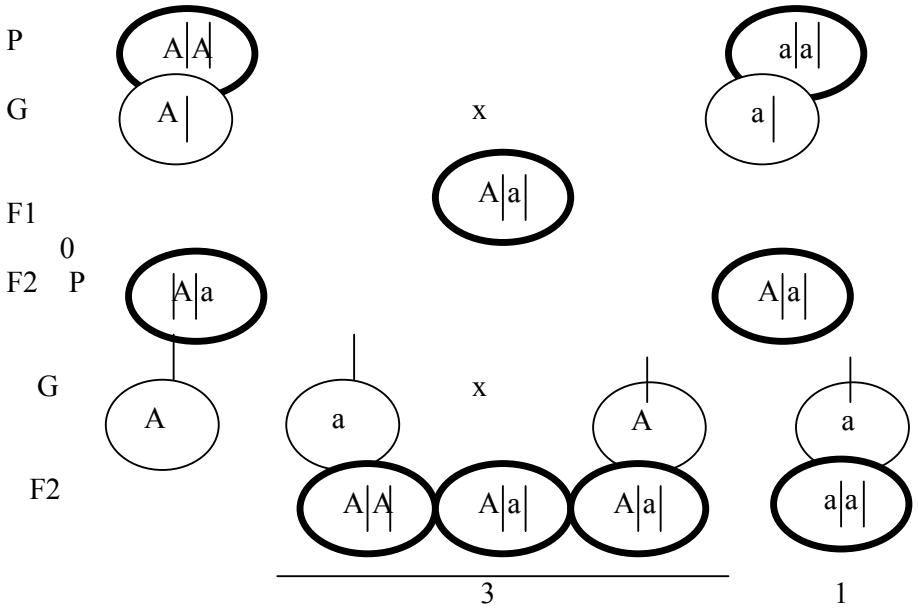
În 1902, W. Sutton a afirmat că în fiecare cromozom este localizat un anumit număr de factori ereditari (gene) şi că fiecare factor (gena) dintr-un cromozom este independent față de factorii ereditari localizați în ceilalți cromozomi.

Atunci când cei doi părinți prezintă aceeaşi genă pe acelaşi cromozom, în perechea de cromozomi rezultată după fecundare, genele identice vor fi în doza dubla, iar organismul respectiv este homozigot (dominant – AA – sau recesiv – aa-), iar când părinții au gene diferite la acelaşi cromozom, oraganismul este heterozigot (Aa). În timpul meiozei (în procesul de formare al gameților) organismul heterozigot va produce gameți diferiți între ei, deoarece într-un gamet (la unii din polii celulei) va trece un cromozom cu gena dominanță, iar în celălalt gamet (la celălalt pol al celulei) va trece celălat cromozom din pereche cu gena recesivă, devenind astfel independenți atat cromozomii cât şi genele localizate pe ei. La o nouă fecundare fiecare cromozom (respectiv gena) din gametul femel se va întalni fie cu un cromozom identic (cu aceeaşi genă) fie cu un cromozom diferit (cu altă genă alelă) din gametul mascul. În felul acesta vor apare indivizi diferiți genetic în combinații noi de gene (respectiv de cromozomi), care indică efectul segregării în procesul de

formare al gametilor urmat de fecundare urmat. Modul cum se realizează segregarea cromozomilor şi respectiv a genelor (factorilor), localizate pe cromozomi separaţi este prezentat în figura 2.2

Fig 2. 2

Mecanismul citologic al segregării la o monohibridare



2.3. ANALIZA CARACTERELOR LA POLIHIBRIDARE

2.3.1. . ANALIZA ÎNCRUCIŞĂRILOR DIFACTORIALE (DIHIBRIDARE)

Prin ***dihibridare*** se înţelege încrucişarea a doi genitori (soiuri, linii, etc.) care se deosebesc prin două perechi de caractere.

Facem precizarea că este vorba de gene independente, situate pe autozomi diferiţi (în nici un caz două gene situate pe acelaşi cromozom).

Exemplu: Întru-una din experienţele sale la mazăre, Mendel a încrucişat două soiuri pure care se deosebesc prin 2 perechi de caractere, şi anume:

1. Culoarea bobului:	AA	- bob galben
	aa	- bob verde
2. Forma bobului:	BB	- bob rotund
	bb	- bob zbârcit

Unul din soiuri avea boabe galbene şi rotunde (AABB) şi celălalt avea boabe verzi şi zbârcite (aabb). În F_1 au rezultat plante dihibride cu boabe galbene şi rotunde (AaBb).

Prin autofecundarea plantelor F_1 a rezultat în generatia a doua (F_2) patru grupe (clase) fenotipice în proporţie de 9:3:3:1, adică:

9/16 – A . B . – galbene – rotunde (P_1 – primul părinte)
3/16 – A . bb – galbene – zbârcite
3/16 – aa B . – verzi – rotunde (recombinari intercromozomiale
1/16 – aa bb – verzi – zbârcite (P_2 – al doilea părinte)

Combinţii noi de gene

Raportul genotipic a fost în proporție de 4 AaBb : 2 AABb : 2 AaBB : 2 aaBb :2 Aabb : 1 AABB : 1 aaBB : 1 aabb (4:2:2:2:2:1:1:1:1).

Gregor Mendel explică această segregare prin faptul ca plantele dihibride din F_1 formează 4 tipuri de gameți, în care se află câte un singur factor ereditar (respectiv cromozom) din fiecare pereche. În urma fecundarii celor 4 tipuri de gameți au rezultat 16 combinații posibile de gene (genotipuri), care au fost grupate in 4 clase fenotipice în proporția amintită de 9:3:3:1 si 9 genotipuri în proporție de 4:2:2:2:2:1:1:1:1. Dintre toate fenotipurile identificate in F_2, Mendel a constatat că în afară de cele două fenotipuri parentale cu boabe galbene si netede (A . B . ce reprezintă P_1) şi boabe verzi şi zbârcite (aabb, ce reprezintă P_2) au mai apărut în urma combinării libere şi întâmplătoare a gameților, respectiv a factorilor ereditari (genelor) două fenotipuri noi, care prezintă un caracter de la un părinte si altul de la celălalt părinte, respectiv plante cu boabe galbene şi zbârcite (A . bb) şi cu boabe verzi şi netede (aa B .).

Pe baza apariției la dihibridare şi, ulterior la polihibridare, a unor combinații noi de caractere (gene) datorită independenței şi puritații gameților, respectiv a genelor situate pe cromozomi separați, Gregor Mendel a formulat a treia şi ultima concluzie de bază a cercetărilor sale, care ulterior a fost consfințita ca Legea a II-a a eredițaii: **Legea combinării libere a genelor (caracterelor) sau segregarea independentă a genelor**, lege pe care am enunțat-o şi la monohibridare pentru a fi grupate la un loc toate concluziile şi, respectiv legile mendeliene.

Combinații noi de gene, în care se întrunesc caractere de la ambii părinți pot apare şi în prima generație la dihibridarea de tip "trans": Aabb x aaBB, când rezulta indivizi AaBb, cu câte un caracter dominant de la fiecare părinte.

Experiențele de dihibridare la mazăre (de tip "Pisum") au relevat relația de dominanță-recesivitate la ambii loci. Ulterior, într-o serie de experimente la plante şi animale au fost evidențiate şi celelalte relații alelice (semidominanța, codominanța, letalitatea, etc.) care au afectat fie un locus, fie ambii loci, determinând modificări profunde ale raportului fenotipic de segregare. Astfel, raportul fenotipic de segregare tipic dihibridării de tip "Pisum" cu dominanța completă la ambii loci, se poate modifica în cazul unor relații alelice de semidominanță, letalitate etc., la unul sau ambii loci:

Relații interalelice		**Raport fenotipic de segregare**
Locus I	**Locus II**	
dominant-recesiv	**semidominant**	**3:6:3:1:2:1**
semidominant	**semidominant**	**4:2:2:2:2:1:1:1:1**
dominant-recesiv	**recesiv letal**	**3:1:6:2**
semidominant	**recesiv letal**	**1:2:1:2:4:2**
recesiv letal	**recesiv letal**	**4:2:2:1**

Metode pentru analiza dihibrizilor

Pentru analiza încrucişărilor difactoriale se folosesc, in general, următoarele metode:

A) Metoda tabelei de combinații (şahul de combinații, după R.C. Punnett)

În metafaza I a meiozei fiecare pereche de cromozomi se separă independent şi apoi, migrează la poli (în gameți) în toate combinațiile posibile, la întâmplare şi cu aceeaşi probabilitate (asemuiți cu dansul cromozomilor). În felul acesta rezultă 4 tipuri de gameți femeli şi masculi, care în procesul de fecundare vor forma 16 combinații genotipice:

		Gameții maculi			
		AB	**Ab**	**aB**	**ab**
Gameții femeli	**AB**	**AABB galben-rotund**	**AABb galben-rotund**	**AaBB galben-rotund**	**AaBb galben-rotund**
	Ab	**AABb galben-rotund**	**Aabb galben-zbârcit**	**AaBb galben-rotund**	**Aabb galben-zbârcit**
	aB	**AaBB galben-rotund**	**AaBb galben-rotund**	**aaBB verde-rotund**	**aaBb verde-rotund**
	ab	**AaBb galben-rotund**	**Aabb galben-zbârcit**	**aaBb verde-rotund**	**aabb verde-zbârcit**

Raport fenotipic de segregare:
9/16 – galben – rotund
3/16 – galben – zbârcit
3/16 – verde – rotund
1/16 – verde – zbârcit

Raport genotipic de segregare:
4/16 – AaBb
2/16 – AABb
2/16 – AaBB
2/16 – aaBb
2/16 – Aabb
1/16 – AABB
1/16 – AAbb
1/16 – aaBB
1/16 – aabb

B) Metoda ramificațiilor

Această metodă este utilizată pentru determinarea tuturor combinațiilor genotipice şi fenotipice posibile, fiind o metodă rapidă şi simplificată.

*a) **proporția genotipurilor***

1/4 AA → 1/4 BB - 1/16 AABB
1/4 AA → 2/4 Bb - 2/16 AABb
1/4 AA → 1/4 bb - 1/16 Aabb

2/4 Aa → 1/4 BB - 2/16 AaBB
2/4 Aa → 2/4 Bb - 4/16 AaBb
2/4 Aa → 1/4 bb - 2/16 Aabb

1/4 aa → 1/4 BB - 1/16 aaBB
1/4 aa → 2/4 Bb - 4/16 AaBb
1/4 aa → 1/4 bb - 2/16 Aabb

*b) **proporția fenotipurilor***

3/4 galben → 3/4 rotund - 9/16 galben – rotund
3/4 galben → 1/4 zbârcit - 3/16 galben – zbârcit

1/4 verde → 3/4 rotund - 3/16 verde – rotund
1/4 verde → 1/4 zbârcit - 1/16 verde – zbârcit

Testarea dihibrizilor cu dominanță completă (toatală). Pentru determinarea genotipurilor dihibrizilor cu acelaşi fenotip, dar genotipuri diferite, se procedează la încrucişarea fiecărui dihibrid cu părintele dublu recesiv folosit ca tester.

a) În cazul că în F_1 rezultă un raport fenotipic de 1:1:1:1 rezultă că dihibridul testat este heterozigot în ambele perechi de carctere, producând 4 tipuri de gameti:

	galben – rotund	verde – zârcit (părintele recesiv folosit ca tester)
P	GgRr	ggrr
G	GR, Gr, gR, gr	gr

GR, Gr, gR, gr x gr → GgRr – 1/4; Ggrr – 1/4; ggRr – 1/4; ggrr – ¼

b) Dacă în F_1 rezultă un raport de segregare fenotipică de 1:1, înseamnă că dihibridul este heterozigot într-o singură pereche de caractere, producând 2 tipuri de gameți:

	galben – rotund	verde – zbârcit
P	GgRR	ggrr
G	GR, gR	gr

GR, gR x gr → GgRr - 1/2; Ggrr – 1/2

Raportul fenotipic de segregare indică faptul că a segregat culoarea bobului şi deci, acest carcter este heterozigot (gg), în timp ce carcterul forma bobului este homozigot.

	galben – rotund	verde – zbârcit (tester)
P	GGRr	ggrr
G	GR Gr — x	gr — GgRr – 1/2 Ggrr – ½

În acest caz, forma bobului reprezintă caracterul heterozigot.

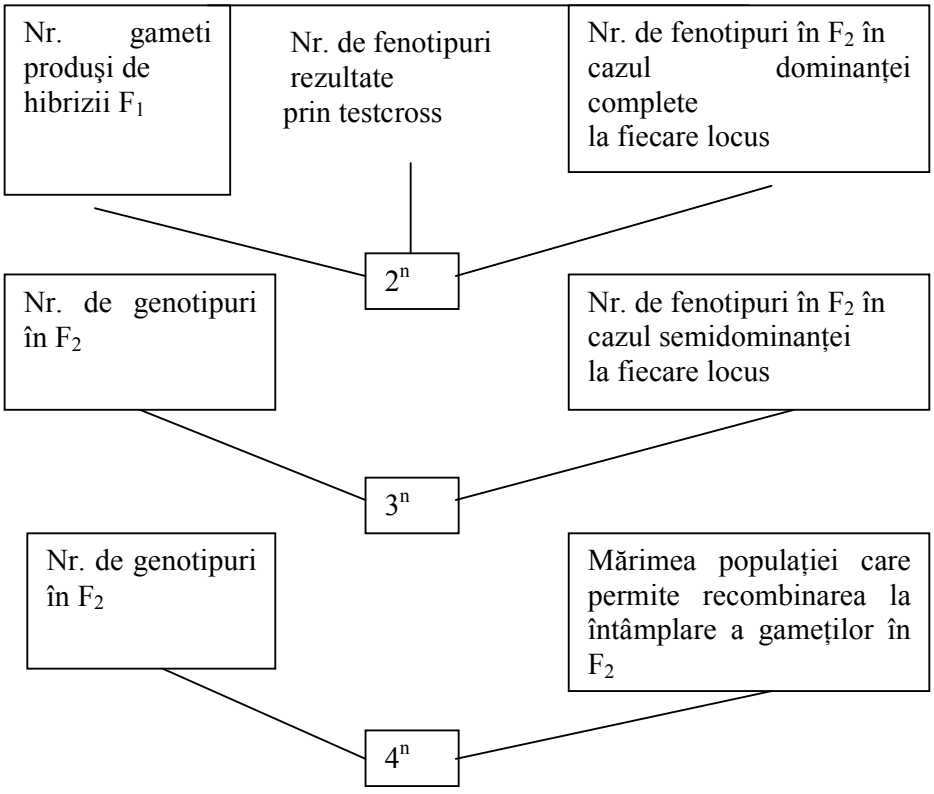
2.3.2. ANALIZA CARACTERELOR LA TRIHIBRIDARE

Trihibridarea reprezintă încrucişarea între doi genitori care se deosebesc prin trei perechi de caractere.

Metodele folosite pentru analiza încrucişarilor difactoriale se pot generaliza şi în cazul încrucişărilor cu trei sau mai multe perechi de alele localizate pe autozomi diferiți.

Dacă n reprezintă numărul perechilor de alele heterozigote se pot determina proporțiile fenotipice în funcție de principalele relații alelice.

Segregarea caracterelor cu dominanță şi semidominanță (codominanță, supradominanța) în funcție de numărul de alele heterozigote


Nr. gameti produşi de hibrizii F_1
Nr. de fenotipuri rezultate prin testcross
Nr. de fenotipuri în F_2 în cazul dominanței complete la fiecare locus
2^n
Nr. de genotipuri în F_2
Nr. de fenotipuri în F_2 în cazul semidominanței la fiecare locus
3^n
Nr. de genotipuri în F_2
Mărimea populației care permite recombinarea la întâmplare a gameților în F_2
4^n

Astfel, la o trihibridare de tipul AABBCC x aabbcc, se pot folosi aceleaşi metode de analiză a descendenților, evitând pe cât poate metoda şahului de combinații, care în acest caz devine foarte complicată.

Dupa **metoda şahului de combinaţii** schema unei trihibridări se prezintă astfel:

P AABBCC x aabbcc
F_1 AaBbCc
F_2 P AaBbCc AaBbCc

Gameţii:

	ABC	ABc	AbC	Abc	aBC	aBc	abC	abc
ABC	64 combinaţii posibile							
Abc								
AbC								
Abc								
aBC								
aBc								
abC								
abc								

→ Dupa proportiile indicate în tabelul de mai sus, rezultă că:
Nr. gameţi $= 2^n = 2^3 = 8$
Nr. fenotipuri $= 2^n = 2^3 = 8$
Nr. genotipuri $= 3^n = 3^3 = 27$
Nr.combinaţii $= 4^n = 4^3 = 64$

Dacă se completează şahul de combinaţii şi se face gruparea combinaţiilor pe clase fenotipice, rezultă următorul raport de segregare fenotipică:

27/64 cu trei carctere dominante (ABC) – **părintele 1**
9/64 cu două caractere dominante şi unul recesiv (Abc)
9/64 cu două caractere dominante şi unul recesiv (AbC) **combinaţii**
9/64 cu două caractere dominante şi unul recesiv (aBC) **noi**
3/64 cu un caracter dominant şi două recesive (Abc) **de gene**
3/64 cu un caracter dominant şi două recesive (abC)
3/64 cu un caracter dominant şi două recesive (aBc)
1/64 cu trei carctere recesive (abc) – **părintele 2**

Raportul genotipic de segregare este greu de realizat după acastă metodă.

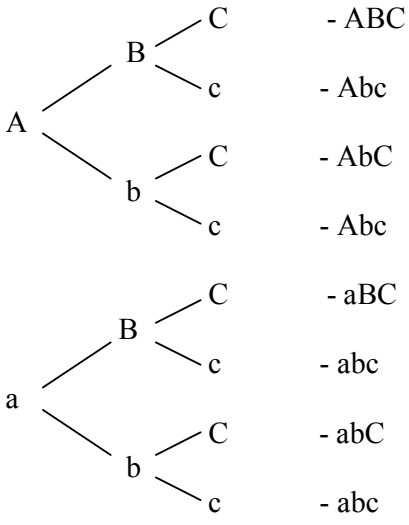
→ După **metoda ramificațiilor** proporția fenotipurilor și genotipurilor este mult mai ușor de realizat:

P AABBCC aabbcc

F_1 AaBbCc

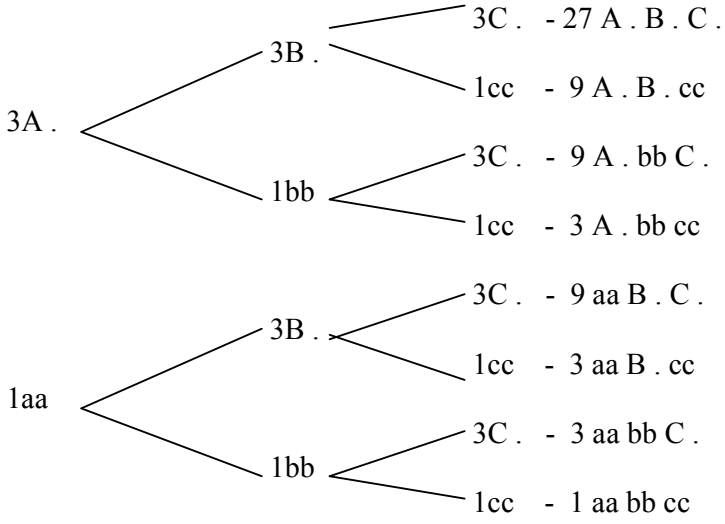
F_2 P AaBbCc AaBbCc

G:

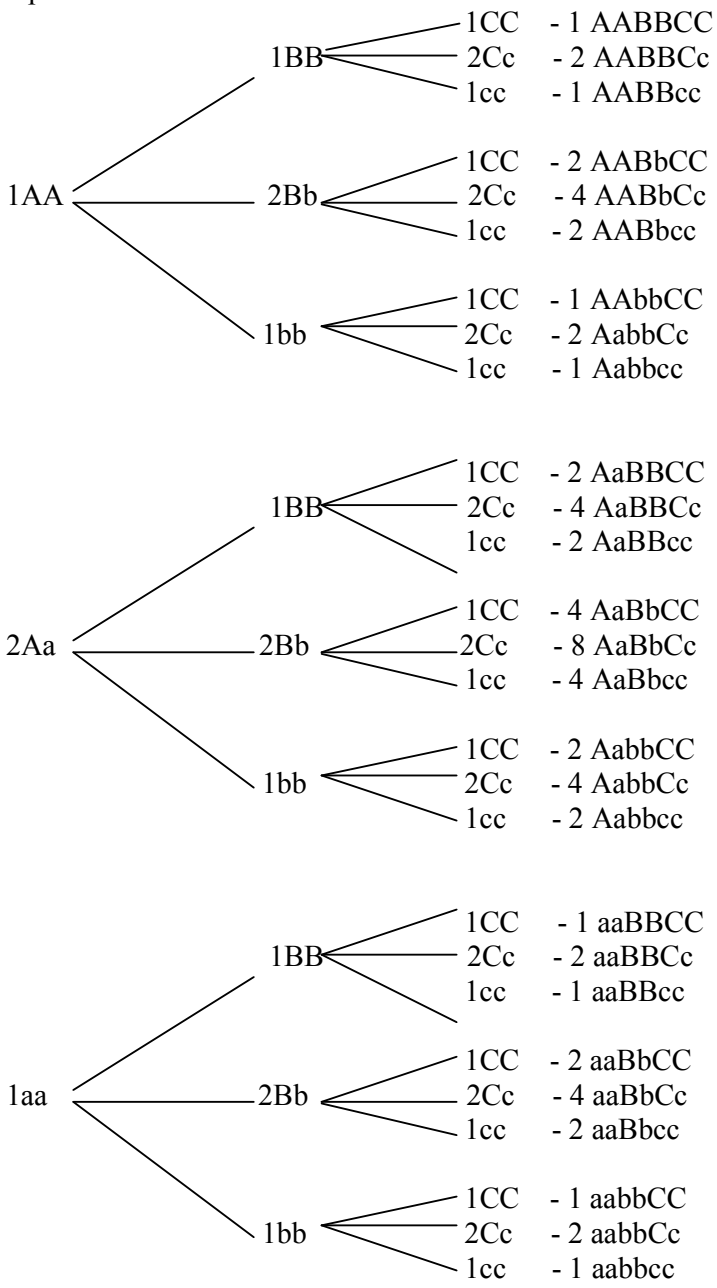


- ABC
- Abc
- AbC
- Abc
- aBC
- abc
- abC
- abc

Combinații fenotipice:



Combinații genotipice:



Deci, raportul genotipic este următorul: 8:4:4:4:4:4:4:2:2:2:2:2:2:2:2:2:2:2:2:2:1:1:1:1:1:1:1:1 = 64

Din studiul raporturilor de segregare se observă că la trihibridare combinațiile noi de gene care rezultă sunt în proporție mult mai ridicată față de dihibridare, întrucat posibilitățile de combinare sunt mai mari, datorită numărului de gene independente implicate. Astfel, dacă la dihibridare proporția combinațiilor noi este de 6/16 (30,7 %), la trihibridare este de 36/64 (56,8 %). Cu cât doi genitori se deosebesc prin mai multe perechi de caractere, cu atât combinațiile noi sunt mai numeroase în defavoarea formelor parentale si variabilitatea organismelor creşte.

2.3.3. INTERACȚIUNI ÎNTRE GENE NEALELE

2.3.3.1 INTERACȚIUNI GENICE EPISTATICE

Genele care inhibă acțiunea altor gene (gene nealele) se numesc ***epistatice***, iar genele inhibate se numesc gene ***hipostatice***. Pot fi atât alele dominante, cât şi cele recesive.

În cazul **epistasiei între doi loci** se obțin întotdeauna mai puțin de 4 fenotipuri în F_2. Epistasia este, în general, responsabilă de 6 tipuri de segregări în F_2. Unele dau naştere la 3 fenotipuri, iar altele la câte 2 fenotipuri.

EPISTASIA DE DOMINANȚĂ (12:3:1)

Când alela dominantă a unui locus, de exemplu alela A (responsabilă de un anumit fenotip) inhibă manifestarea fenotipică a alelelor din alt locus B (B sau b) ea se numeşte ***epistasie de dominanță***. Alelele locusului B se manifestă numai la indivizii homozigoți recesivi pentru locusul epistatic (aaBb şi aabb). Astfel, indivizii cu genotipul A . B . şi A . bb au acelaşi fenotip determinat de gena epistatică dominantă A şi indivizii aaB . şi respectiv aabb (fără alela epistatică dominantă A) vor avea alte două fenotipuri. În F_2 proporția clasică de 9:3:3:1 se modifică şi devine 12:3:1.

Exemplu:
La încrucişarea între un soi de ovăz cu glume negre cu un soi cu glume albe s-au obținut în F_1 numai plante negre, iar în F_2 a avut loc segregarea în raportul de 12/6 plante cu glume negre; 3/16 cu glume cenuşii : 1/16 plante cu glume albe.

Raportul de segregare din F_2 ne atrage atenția că pentru culoarea glumelor sunt implicate două perechi de gene, iar că gena dominantă pentru culoarea neagră este epistatică față de gena dominantă pentru culoarea cenuşie.

Notând cu N – culoarea neagră, C – culoarea cenuşie, nn şi cc – culoarea albă, dihibridarea de mai sus se prezintă astfel:

	glume negre		**glume albe**
P	**NNCC**		**nncc**
G	**NC**	**x**	**nc**
F_1	**NnCc – glume negre**		

Din analiza şahului de combinații din F_2, rezultă că:

N . C .	**-9**	**-12 cu glume negre**
N .cc .	**-3**	
nnC .	**-3**	**-3 cu glume cenuşii**
nncc	**-1**	**-1 cu glume albe**

EPISTASIA DE RECESIVITATE (9:3:4)

Când o genă recesivă homozigotă aa inhibă exprimarea fenotipică a alelelor unui locus B, se consideră că genotipul aa exercită o epistasie recesivă asupra locusului B. Aceasta înseamnă că aa inhibă pe BB, Bb si bb.

Exemplu:

Şoarecii albi sunt din punct de vedere genetic de tip sălbatic (agouti) deoarece conţin gena A, care însă nu se manifestă datorită genei recesive epistatice cc, care inhibă formarea oricărui pigment. Ei au genotipul AAcc sau Aacc.

La încrucişarea unor şoareci albi (AAcc) cu şoareci negri (aaCC) au rezultat în F_1 şoareci de tip sălbatic (agouti), iar în F_2 un raport de segregare de 9 agouti : 3 negri : 4 albi.

	albi		negri
P	**AAcc**		**aaCC**
G	**Ac**	**x**	**aC**
F_1	**AaCc – agouti (tip sălbatic)**		
F_2	**9 – agouti (A . C .)** **3 – negri (aaC .)** **4 – albi (A . cc şi aacc)**		

Deşi este vorba de un singur caracter (culoarea părului), raportul de segregare indică faptul că acest caracter este influenţat de o genă epistatică recesivă. Notând cu A . – agouti, aa – culoarea albă, C . – culoarea neagră, cc – culoarea albă (epistasie).

EPISTASIA DE DOMINANȚĂ ŞI RECESIVITATE (13:3)

În acest caz, o gena dominanta A inhibă o altă genă dominantă B, iar gena recesivă homozigotă bb inhibă gena recesivă homozigotă aa.

Indivizii A.B. , A.bb şi aabb au acelaşi fenotip, iar indivizii aaB. au un alt fenotip. Raportul de segregare între cele două fenotipuri este de 13 : 3.

Exemplu:

	Leghorn (albă)		Wyandotte (albă)	
P	**IICC**	**x**	**iicc**	
F_1	**IiCc (albă)**			
F_2	**9 I.C.**	**- albă**		
	3 I.cc	**- albă**	**13 albă**	
	1 iicc	**- albă**		
	3 iiC.	**– neagră**	**3 neagră**	

Raportul fenotipic este de 13 : 3.

La incrucişarea între rasele de găini albe, Leghorn x Wyandotte, în F_1 rezultă numai găini albe, iar în F_2 segregă în raporul de 13 găini albe : 3 găini negre. Numărul de 16 combinaţii în F_2 indică prezenţa a două perechi de gene între care apar interacţiuni epistatice. S-a dedus că rasa Leghorn este genetic de culoare neagră (C .), dar nu se manifestă din cauza unei gene epistatice dominante (I .). Rasa Wyandotte are gena recesivă cc, care la rândul ei inhibă gena ii ce produce culoare. Culoarea neagră apare numai la genotipul iiC .

2.3.4 VERIFICAREA RAPORTURILOR DE SEGREGARE (TESTUL X^2)

Pentru verificarea unei ipoteze de segregare,trebuie găsită o metodă de calcul care permite estimarea probabilităţii (P) observării simultane a unei serii de abateri (diferenţe) între valorile observate şi cele aşteptate. Această metoda trebuie să ţină cont de numărul de indivizi (descendenţi) analizaţi şi de gradul de libertate (GL). Gradul de libertate este egal cu numărul de clase fenotipice (n) minus 1 (GL = n-1). Testul χ^2 este metoda de calcul care permite evaluarea unei asemenea probabilităţi.

La compararea rezultatelor obţinute cu cele aşteptate (teoretice) în cadrul unei anumite ipoteze de segregare, se admite în primul rând că ipoteza considerată este justă şi că diferenţa între rezultatele obţinute şi cele aşteptate se datorează numai faptului că numărul de descendenţi (indivizi) analizaţi este limitat.

Testul χ^2 se calculează după formula următoare:

$\chi^2 = \Sigma (d^2/t)$ în care: d = diferenţa dintre valorile experimentale şi cele teoretice;
t = valorile teoretice

În funcţie de valoarea lui χ^2 calculată şi gradele de libertate se determină probabilitatea P, folosind datele din tabelul de date (după R. A. Fisher şi F. Yates).

Tabelul 2.1
Distribuţia χ^2 (după Fisher şi Yates)

GL	Probabilitatea										
	0,95	0,90	0,80	0,70	0,50	0,30	0,20	0,10	0,05	0,01	0,001
1	0,004	0,02	0,06	0,15	0,46	1,07	1,64	2,71	3,84	6,64	10,83
2	0,10	0,21	0,45	0,71	1,39	2,41	3,22	4,60	5,99	9,21	13,82
3	0,35	0,58	1,01	1,42	2,37	3,66	4,64	6,25	7,82	11,34	16,27
4	0,71	1,06	1,65	2,20	3,36	4,88	5,99	7,78	9,49	13,28	18,47
5	1,14	1,61	2,34	3,00	4,35	6,06	7,29	9,24	11,07	15,09	20,52
6	1,63	2,20	3,07	3,83	5,35	7,23	8,56	10,64	12,59	16,81	22,46
7	2,17	2,83	3,82	4,67	6,35	8,38	9,80	12,02	14,07	18,48	24,32
8	2,73	3,49	4,59	5,53	7,34	9,52	11,03	13,36	15,51	20,09	26,12
9	3,32	4,17	5,38	6,39	8,34	10,66	12,24	14,68	16,92	21,67	27,88
10	3,94	4,86	6,18	7,27	9,34	11,78	13,44	15,99	18,31	23,21	29,59
	Nesemnificativ								Semnificativ		

Probabilitatea poate fi experimentată în procente sau în fracţiuni de unitate. Dacă această probabilitate este prea mică inseamnă că raporturile de segregare experimentale nu pot fi luate in considerare pentru demonstarea unei anumite ipoteze. În mod convenţional, pentru cea mai mare parte a experienţelor din biologie, se elimină o ipoteză când P< 5% (adică atunci când şansa ca o ipoteză adevărată să fie eliminată este de 1:20). În acest caz, se consideră că valorile experimentale se abat semnificativ faţă de valorile aşteptate (teoretice) în cadrul ipotezei stabilite.

Abaterile mari dintre valorile experimentale şi cele teoretice, în cadrul unei anumite ipoteze, se pot datora următoarelor cauze:

- ipoteza privind raportul de segregare nu este justă, caz în care se lansează o altă ipoteză care să poată fi luată in considerare;
- valorile experimentale au fost afectate de o serie de erori (determinări greşite, impurificări mecanice sau biologice a descendenței analizate, etc.);
- numărul de indivizi cercetați a fost prea mic.

Utilizarea testului χ^2 în analiza rezultatelor experimentale de genetică are două limitări importante: i) elementele de calcul trebuie să fie numărul de indivizi din clasele fenotipice şi nu procentele sau proporțiile deduse din aceste efective; ii) nu se pot utiliza când o clasă fenotipică are un număr mai mic de 5 indivizi.

În mod teoretic, testul χ^2 se foloseşte numai in cazul variabilelor continui (caracterelor cantitative) cu o distribuție normală. La analiza caracterelor cantitative, de pildă talia plantelor într-o populație (soi), clasa cea mai frecventă va corespunde taliei medii, iar celelalte clase mai puțin frecvente, vor corespunde taliilor mai mici. Toate taliile plantelor sunt posibile între minus şi plus variabilă, ceea ce înseamnă că, acest caracter are o distribuție continuă. La caracterele calitative unde numărul claselor fenotipice este de obicei restrâns, în unele cazuri trebuie să se introducă o corecție pentru a ține cont de absența continuității. Această corecție implică o uşoară diminuare a valorii lui χ^2, care poate avea importanță mare în vecinătatea valorii critice corespunzătoare lui $P_{5\%}$. Această corecție este obligatorie când anumite clase fenotipice cuprind între 5 – 10 indivizi. Testul χ^2 corectat se calculează după formula:

$$\chi^2_{corectat} = \Sigma\, [(d - 0{,}5)^2 / t]$$

Exemplu:

La încrucişarea unui soi de tomate cu pulpa roşie cu un soi cu pulpă galbenă razultă în F_1 numai plante cu pulpă roşie. În F_2 din cele 400 plante s-au găsit 90 plante ale căror fructe au pulpă galbenă. Presupunem că acest caracter este guvernat de o singură genă şi că pulpa roşie (Y.) este dominantă față de pulpa galbenă (yy).

Rezolvare:

P: YY(roşie) x yy(galbenă)

F_1: Yy(roşie)

F_2: Raport teoretic: 3/4Y. (roşie)
1/4 yy (galbenă)

Fiind vorba de numai două clase fenotipice se calculează obligatoriu χ^2 corectat:

Clase fenotipice	**Valori exper. (e)**	**Valori teoretice (t)**	**(e – t) – 0,5**	**$[(e - t) - 0{,}5]^2 / t$**
roşie	310	3/4 x 400 = 300	9,5	0,300
galbenă	90	1/4 x 400 = 100	9,5	0,902
Total	400	400		$\chi^2 = 1{,}102$

GL = 2 – 1 = 1

Testul χ^2 nu are valoare semnificativă, întrucât P > 20% şi deci, ipoteza privind raportul de segregare este justă.

Rezumat: Ereditatea mendeliana; Ereditatea caracterelor in cazul monohibridarii; Tipuri de relatii interalelice la monohbridare; Domonanta si recesivitate ; Semidominanta; Supradominanta; Letalitatea; Penetranță şi expresivitate; Relațiile dintre gene şi mediu; Sisteme plurialele (Alele multiple); Mecanismul citologic al segregării genelor; Analiza caracterelor polihibride; Analiza incrucisarilor di-factoriale (dihibridarea);Analiza caracterelor la trihibridare; Interactiunea intre gene nealele; Interactiuni genice epistatice; Verificarea raporturilor de segregare (Testul χ^2)

Test autocontrol:

1	Prin hibridare se intelege:	a) castrarea formei tata
		b) castrarea formei mama
		c) castrarea formei mama si polenizarea cu polen de la forma tata
2	Cate tipuri diferite de gameti va produce structura genetica AABbCcDDEe ?	a) 3
		b) 8
		c) 4
3.	Prin incrucisarea intre un soi de mazare cu pastai cilindrice si un soi cu pastai aplatizate, in F_1 au rezultat numai plante cu pastai cilindrice. Ce raport fenotipic va apare in F_2?	a) 1 aplatizate : 3 cilindrice
		b) 1 cilindrice : 3 aplatizate
		c) 2 aplatizate : 2 cilindrice
4	Mama are grupa sangvina B, copilul grupa O. Ce grupa sangvina poate avea tatal ?	a) O, AB
		b) O, A homozigota
		c) O, A heterozigota, B heterozigota.
5	In cazul relatiei de semidominanta pentru doi loci, raportul fenotipic in generatia F_2, va fi:	a) 9:3:3:1
		b) 4:2:2:2:2:1:1:1:1
		c) 12: 3: 1
6	Structura heterozigota, presupune prezenta:	a) a doua alele diferite
		b) a doua alele de acelasi fel
		c) a trei alele diferite

CAPITOLUL III

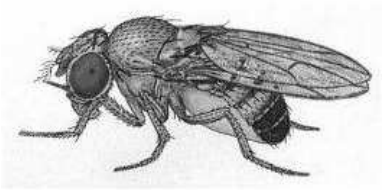
MECANISMUL CROMOZOMAL AL EREDITĂȚII

1. TEORIA CROMOZOMALĂ A EREDITĂȚII

Pe baza încrucişărilor la mazăre, Mendel a observat şi a explicat fenomenul de segregare şi combinare independentă a genelor, care afectează în egală măsură şi cromozomii, fiecare genă fiind localizată pe un cromozom. În felul acesta, în meioză, are loc o distribuție independentă a fiecărui cromozom din perechea parentală, într-un gamet sau altul. Întrucât în experiențele sale Mendel a folosit la încrucişare indivizi care posedau caractere determinate de gene independente, localizate fiecare pe câte un cromozom, genele dintr-un heterozigot de tipul AaBb s-au separat în meioză independent şi s-au combinat în procesul de fecundare liber în combinații posibile, într-un raport fenotipic de 9:3:3:1.

Thomas Hunt Morgan

Revine meritul lui **Thomas Hunt Morgan (**1866–1945) şi colaboratorilor săi (**C.B. Bridges, A.A. Sturtevant** şi **H.J. Muller**) care între anii 1910 – 1915 au efectuat numeroase încrucişări la *Drosophilla melanogaster* şi pe baza rezultatelor obținute au elaborat ***teoria cromozomială a eredității***, care în esență asociază genele cu cromozomii.



Drosophila melanogaster 2n = 8

Efectuând cercetări similare pe *Drosophilla* ei au demonstrat că fazele de cuplare şi repulsie sunt consecința localizării genelor în acelaşi cromozom; între cromozomii omologi poate avea loc un schimb reciproc de gene în proporții diferite, care determină apariția unor gameți, şi respectiv indivizi, recombinați (cu cromozomi recombinați)

Cercetările şi concluziile lui T.H. Morgan şi ale colaboratorilor săi au fost sintetizate in trei teze (teorii):

- ***plasarea liniară a genelor pe cromozomi*** (care a fost asemuită cu aranjarea mărgelelor într-un şirag). Această teză s-a bazat pe faptul că la *Drosophilla* se cunoşteau peste 500 gene mutante, iar în gameții acesteia există numai 4 cromozomi (2n = 8), şi în consecință, mai multe gene se găsesc în acelaşi cromozom;
- ***tendința genelor de pe acelaşi cromozom de a se transmite în bloc sau înlănțuite (linkage)***, adică de a intra în gameți în combinații parentale, comportându-se ca o unitate în ereditate. Când două sau mai multe gene sunt localizate în acelaşi cromozom, spunem că sunt înlănțuite. Ele pot fi înlănțuite fie pe un autozom (gene linkage), fie pe un cromozom al sexului (gene sex–likage);
- ***tendința genelor înlănțuite de a intra în gameți în alte combinații decât cele parentale***, acest fenomen fiind denumit ***crossing-over***. În esență, crossing-over-ul reprezintă un schimb reciproc de segmente cromatidice nesurori între doi cromozomi omologi. În urma acestui schimb de material genetic (gene) apar cromatide recombinate cu combinații noi de gene, denumite ***crossovere*** sau ***recombinări***, fiind deosebite de combinațiile parentale.

1. 1. ÎNLĂNȚUIREA GENELOR DISPUSE ÎN ACELAŞI CROMOZOM (LINKAGE)

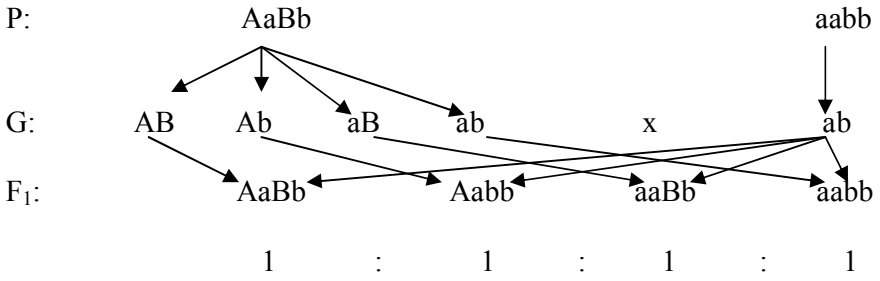
Studiul fenomenului de linkage a permis evidențierea mai multor situații. Astfel, s-a stabilit că el poate fi complet (absolut sau total), atunci când genele de pe acelaşi cromozom au tendința permanentă de a rămâne înlănțuite şi incomplet (relativ sau parțial), când între cromozomii omologi au loc schimburi reciproce de gene.

Detectarea linkage-ului se poate face în două moduri:

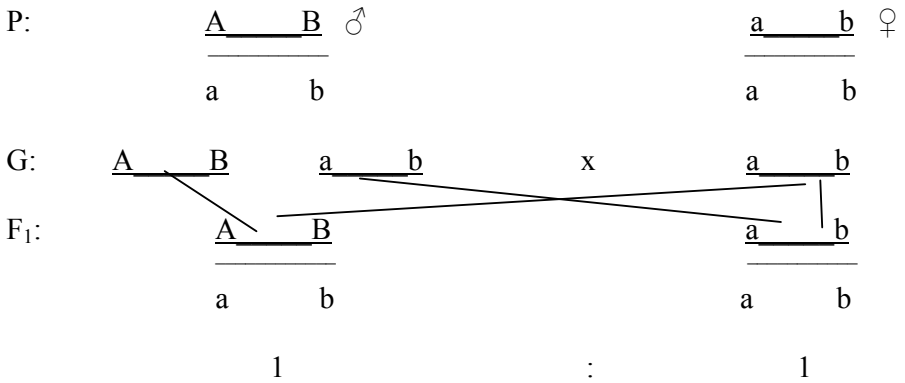
a) *prin testcross-ul heterozigotului* F_1 (mai ales la organismele dioice unde încrucişarea se face uşor).

Metoda constă în apariția în descendența testcross a unui raport de segregare 1:1, indiferent de numărul de gene înlănțuite.

La testcross-ul unui dihibrid heterozigot (F_1), în cazul genelor independente (gene localizate pe cromozomi diferiți), rezultă un raport de segregare de 1:1:1:1.



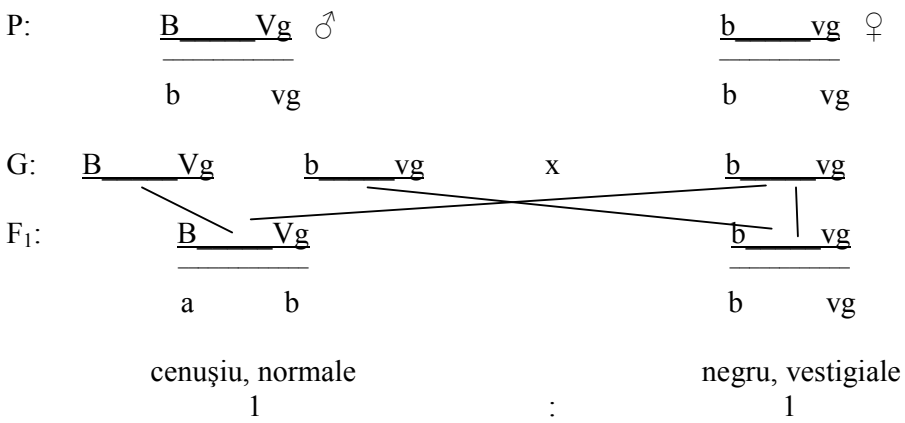
În cazul testcross-ului unui dihibrid heterozigot cu gene înlănțuite (situate pe acelaşi cromozom) rezultă raportul de segregare de 1:1. reprezentând formele parentale:



Orice deviere de la raportul testcross de 1:1:1:1 indică o abatere de la combinarea independentă, cel mai adesea datorată fenomenului de linkage.

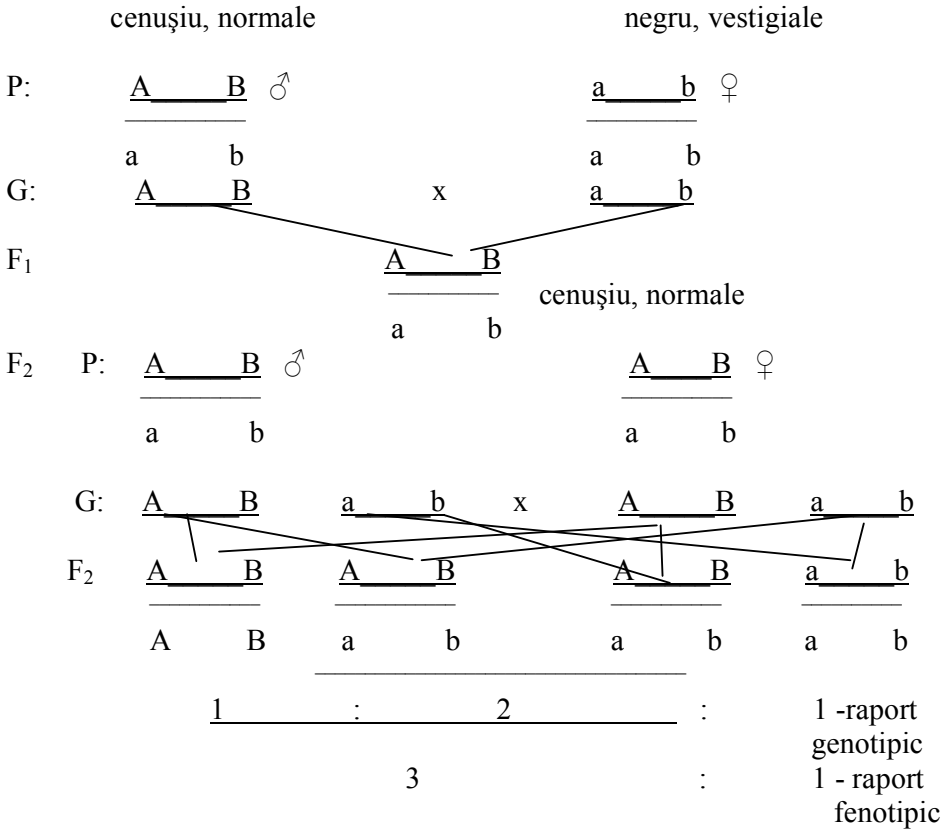
Exemplu:

La încrucişarea unor masculi heterozigoți de *Drosophila* cu corp cenuşiu şi aripi normale (BVg/bvg) cu femele dublu recesive cu corp negru şi aripi vestigiale (bvg // bvg) folosite ca tester, rezultă în loc de 1 BbVgvg : 1 Bbvgvg : bbVbvb : 1 bbvgvg, cât ar fi rezultat la combinarea indepententă a genelor, un raport simplu de 1 BVg // bvg : 1bvg // bvg, care indică înlănțuirea celor două gene. Acest testcross se prezintă schematic astfel:



c) prin studiul generației F_2 (preferabil la organismele hermafrodite şi monoice la care testcross-ul se execută mai dificil). În cazul unei dihibridări cu gene independente raportul fenotipic în F_2 este de 9:3:3:1, iar la o dihibridare cu gene linkage, precum şi la orice polihibridare linkage raportul în F_2 este de 3:1. O dihibridare cu gene linkage se desfaşoară după schema de mai jos.

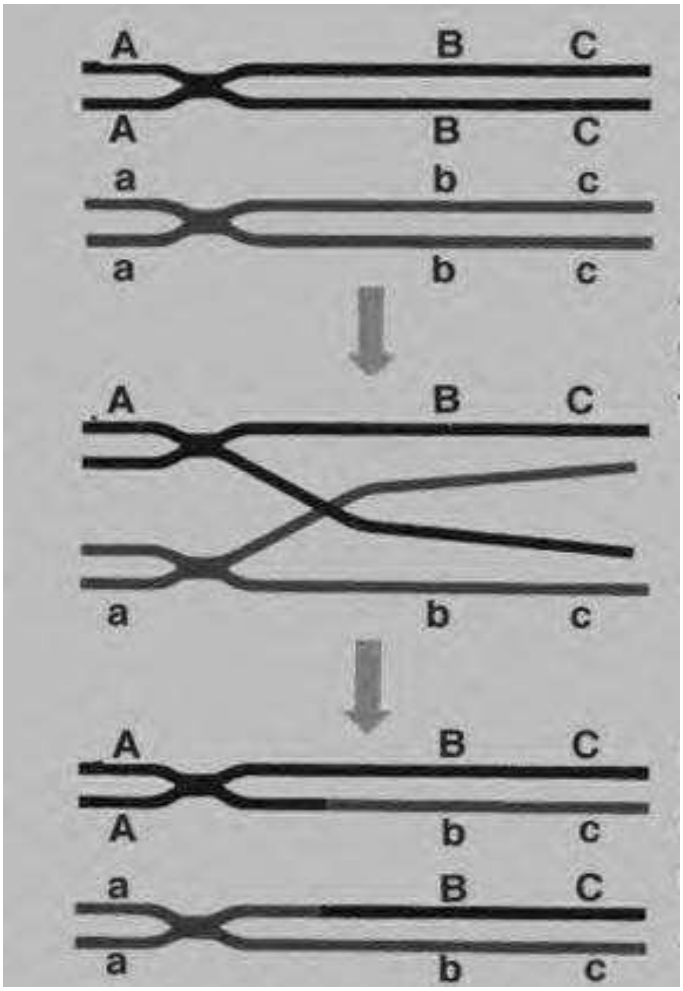
Linkage-ul complet se manifestă rar. El poate fi prezent numai într-o pereche sau într-o regiune oarecare a unei perechi de cromozomi, care nu poate să conjuge.



1. 2. SCHIMBUL RECIPROC DE GENE (CROSSING- OVER-UL)

Crossing over-ul apare în meioză, dar poate să apară şi în mitoză, în diferite țesuturi şi organe.

În cursul meiozei, fiecare cromozom se duplică în două cromatide surori, identice. Cromozomii omologi se împerechează (conjugă) şi formează tetrade cromatidice; între cromatidele nesurori pot avea loc schimburi reciproce de segmente (gene). În schema de mai jos prezentăm situația când are loc un singur crossing over între două gene, A şi B.



Rezultă că două dintre cele patru cromatide nu au suferit crossing over şi au genele asociate ca în cromozomii parentali (***cromatide parentale***), iar celelalte două cromatide au suferit crossing over-ul (schimb reciproc de gene) şi prezintă asociaţii noi de gene (***cromatide recombinate*** sau ***remaniate***).

Un crossing over în afara intervalului A-B nu produce schimbări între cei doi markeri (A şi B).

Dacă între doi loci (A-B) apar două crossing overe între aceleaşi cromatide surori, cromatidele rezultate la sfârşitul meiozei vor fi toate de tip parental.

Orice dublu crossing over între doi markeri A şi B, nu poate fi decelat decât în prezenţa unui al treilea marker C situat între A şi B.

Dacă între A şi C, pe de o parte şi între C şi B, pe de altă parte, probabilităţile de apariţie a unui crossing over sunt x şi, respectiv y, probabilitatea crossing overe-lor duble (unul între A şi C şi altul între C şi B) este egală cu produsul xy.

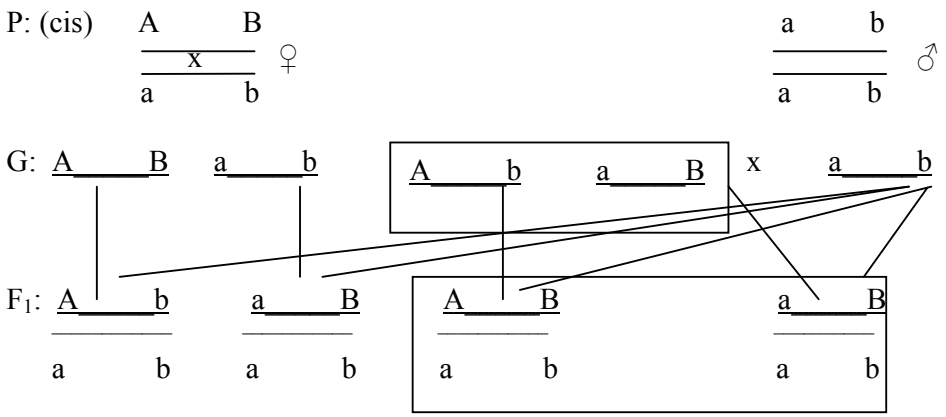
Crossing over-ul se detectează ca şi linkage-ul prin *testcross-ul heterozigotului F_1* şi *analiza ralortului de segregare în F_2*.

a) *detectarea crossing over-ului prin testcross* (la crossing over-ul între doi loci). Un dublu heterozigot care se testează cu părintele dublu recesiv poate avea două poziţii ale alelelor: i) poziţia cis, când ambele alele dominante se găsesc pe un cromozom, iar alelele recesive pe cromozomul omolog (AB // ab) şi ii) poziţia trans, când fiecare cromozom are o alelă dominantă şi altă alelă recesivă (AB // aB). Aceasta indică faptul că gameţii de aceiaşi constituţie pot fi parentali sau recombinaţi după asocierea genelor parentale.

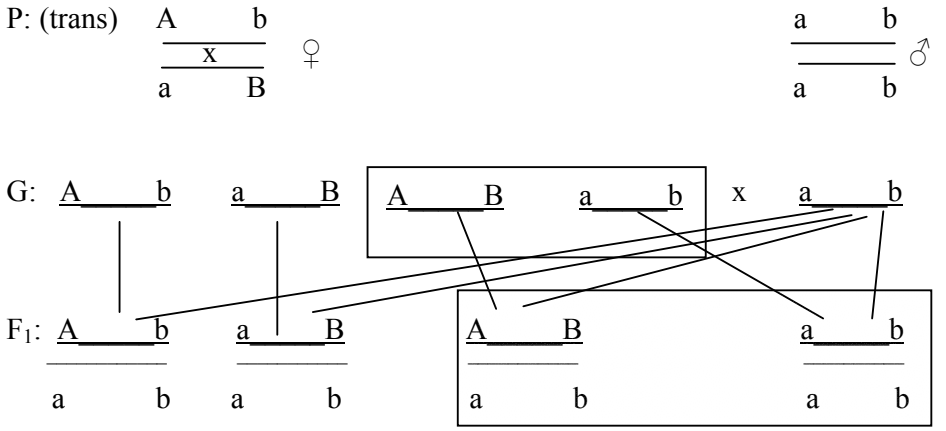
Analizele hibridologice efectuate la *Drosophila* de către Morgan şi colaboratorii au relevat faptul că heterozigotul F_1 folosit ca femelă formează patru tipuri de gameţi în proporţii diferite: gameţii de

tip parental apar cu o frecvență mare, iar gameții recombinați cu o frecvență scăzută. Testerul mascul este homozigot şi recesiv, formând un singur tip de gameți. În descendența testcross apar patru fenotipuri în proporții determinate de cele patru tipuri de gameți. Combinațiile parentale (non cross overe), care apar în proporția cea mai mare, indică intensitatea linkage-ului între cei doi loci considerați, iar tipurile noi de indivizi reprezintă recombinările genelor (crossovere).

Crossing over-ul se poate prezenta schematic astfel:



Combinații parentale (non crossovere) Recombinări (crossovere)

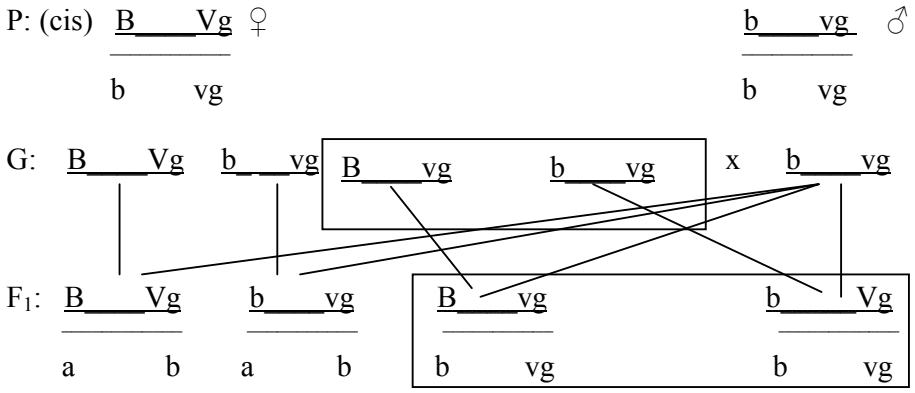


Combinații parentale (non crossovere) Recombinări intracromozomale (crossovere)

Exemplu:

La încrucişarea unei femele heterozigote de *Drosophila* cu corp cenuşiu şi aripi normale (BVg // bvg0 cu un mascul dublu recesiv (bvg // bvg) au rezultat în descendența acestui testcross 41,5% indivizi cu corp cenuşiu şi aripi normale, 41,5% cu corp cenuşiu şi aripi vestigiale, 8,5% cu corp negru şi aripi vestigiale şi 8,5% cu corp negru şi aripi normale. Primele două fenotipuri reprezintă combinațiile parentale (non crossovere) care însumează 83%, iar ultimele două fenotipuri reprezintă recombinări ale celor două gene (crossovere), datorate schimbului reciproc de gene între cei doi cromozomi omologi, însumând 17%.

Analiza acestor rezultate i-au permis lui Morgan să constate că frecvența crossing over-ului între cele două gene (B şi Vg) reprezintă distanța dintre aceste gene localizate în acelaşi cromozom. Când s-au folosit în analize hibridologice alți loci (gene), frecvența recombinărilor a fost alta, demonstrând astfel, corelația dintre frecvența crossing overe-lor înregistrate Î distanța între genele implicate.



Combinații parentale (non crossovere) 83%

Recombinări (crossovere) 17%

La încrucişarea trans s-a constatat că între cei doi loci apare crossing over-ul cu aceiaşi frecvență, aceasta constituind un argument în plus pentru dependența dintre frecvența crossing overe-lor şi distanța dintre gene.

b) *detectarea crossing over-ului prin analiza descendenței F_2* (la crossing over-ul înre cei doi loci). La plante şi îndeosebi la cele hermafrodite şi unisexuat monoice, la care prin testarea heterozigotului s-ar obține puține semințe (respectiv indivizi) este mai indicată detectarea crossing over-ului prin analiza raportului de segregare în F_2.

În cazul a doi loci independenți (nu manifestă linkage), segregarea fenotipică în F_2 este tipic mendeliană, adică de 9:3:3:1. Dacă cei doi loci manifestă linkage, atunci în F_2 se vor manifesta fenotipic în exces combinațiile parentale (non crossoverele), în timp ce recombinările (crossoverele) vor apare cu o frecvență scăzută, dependentă de distanța dintre genele considerate.

1.2.1. FACTORII CARE INFLUENȚEAZĂ

CROSSING - OVER-UL

Dacă mediul de viață în care se execută experimentul pentru relevarea crossing over-ului rămâne constant de la o generație la alta, atunci frecvența crossoverelor dintre gene nu se modifică, ceea ce indică faptul că acest fenomen este determinat genetic. În condiții de mediu cu factori variabili, valoarea crossing over-ului se poate modifica într-un sens sau altul. De asemenea, anumiți factori biologici sau genetici pot afecta, în anumite cazuri, în mod drastic, valoarea crossing over-ului. De aceea, încrucişările efectuate în scopul estimării valorii crossing over se fac în condiții de mediu constante (uniforme) şi cu genitori puri.

Dintre factorii care influențează direct sau indirect fenomenul de crossing over menționăm pe cei mai semnificativi, şi anume (T. Crăciun şi colab., 1978):

- **Sexul**. La origanismele cu lipsă de omologie între cromozomii sexului **X** şi **Y,** însoțită adesea de absența chiasmelor între autozomii omologi (în profaza I a meiozei), nu apare sau este foarte redus fenomenul de crossing over. De exemplu, la diptere, la care masculul este heterogametic (**XY**), precum şi la unele lepidoptere la care femela este heterogametică (**XY**), nu apare crossing

over-ul. La organismele cu crossing over la ambele sexe, există adesea diferenţe de la un sex la altul. De regulă, o frecvenţă mai scăzută a crossoverelor se observă tot la sexul heterogametic.

- **Vârsta**. La *Drosophila melanogaster*, Bridges (1927) a constatat că femele de vârstă diferite produc crossovere în proporţii variabile. Astfel, la începutul maturităţii sexuale se înregistrează o frecvenţă maximă de crossovere, iar după aceea la intervale diferite de timp, s-au observat mai multe minime. La porumb, s-au observat, de asemenea, fluctuaţii ale frecvenţei de crossovere în raport cu vârsta plantelor, iar la femeile între 35-40 de ani creşte rata non-disjuncţiei perechii de cromozomi **X**, ceea ce determină apariţi unor descendenţi aneuplozi, adesea cu afecţiuni (sindromuri) foarte grave.

- **Zona heterocromatinei**.

În zona heterocromatinei a cromozomului, situată de o parte şi de alta a centromerului, precum şi în sateliţi, chiasmele lipsesc sau se gasesc cu o frecvenţă redusă. Genele din această parte a cromozomului sunt foarte dense, puternic spiralizate, cu posibilităţi mici de transcripţie şi deci, de funcţionare, fiind considerate inactive.

- **Modificările în structura cromozomului**.

În funcţie de natura lor, pot reduce sau suprima prezenţa chiasmelor între cromozomii omologi. Aceste modificări apar cu frecvenţă mare în urma tratamentelor cu agenţi mutageni în doze mari, care induc numeroase şi diferite dislocaţii cu efecte negative asupra organismelor.

Practic, toate tipurile de modificări în structura cromozomilor (deficienţele, duplicaţiile, inversiile, translocaţiile) în stare heterozigotă suprimă sau reduc apariţia chiasmelor prin lipsa omologiei induse artificial între cromozomii pereche.

- **Modificările numărului de genomuri sau de cromozomi**

(autopoliploidia, alopoliploidia, monosomia) reduc sau suprimă total apariţia chiasmelor şi respectiv, a crossing over-ului.

- **Factorii de mediu** (temperatura, lumina, umididatea, nutriţia, etc.) pot afecta în mod diferit, în anumite etape ale dezvoltării oraganismelor, apariţia chiasmelor şi respectiv, a crossing overe-lor, mai ales în regiunile heterocromatice ale cromozomilor.

1.2.2. TIPURI DE CROSSING - OVER

Crossing over-ul se poate clasifica după mai multe criterii, dintre care menţionăm:

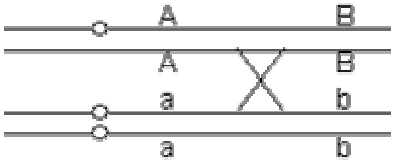
a) *după tipul de diviziune celulară în care apare* se cunosc două tipuri de crossing over, şi anume:

1) **crossing over meiotic**, are loc în profaza I a meiozei şi se identifică în diplonem, prin apariţia chiasmelor între cromatidele nesurori ale cromozomilor omologi. Este tipul cel mai frecvent de crossing over, care prin recombinările intracromozomiale, reprezintă o sursă foarte importantă a variabilităţii organismelor. Condiţiile majore pentru manifestarea fenotipică a acestui tip de crossing over sunt: prezenţa obligatorie a cromozomilor omologi în stare heterozigotă şi realizarea formaţiunilor citologice de tetradă cromatidică.

2) **crossing over mitotic** sau **somatic**. Mai sus am precizat faptul că crossing overe-ul este asociat în mod normal, cu diviziunea meiotică. În anumite condiţii şi cu o frecvenţă foarte redusă, un fenomen asemănător poate avea loc şi in diviziunea mitotică (în celulele somatice de la plante şi animale, la sfârşitul interfazei sau în profaza mitotică, când cromozomii preche au formate cele 4 fire cromatidice şi sunt în stare heterozigotă. Acest tip de crossing over a fost denumit crossing over mitotic sau somatic şi care se detectează fenotipic prin segregarea mitotică a genelor marker pe acelaşi individ, determinând apariţia de ţesuturi mozaicate (ţesuturi normale alături de ţesuturi recombinate). Crossing over-ul mitotic a fost pus în evidenţă la *Drosophila melanogaster* (C. Stern, 1936); la plante (J.H. taylor, 1958), precum şi la numeroase microorganisme (bacterii, ciuperci).

b) *după nivelul la care are loc ruperea şi schimbul de segmente cromozomiale*, crossing over-ul poate fi:

1) **crossing over egal**, atunci când chiasmele apar între loci omologi (la acelaşi nivel sau punct) şi segmentele cromatidice care se schimbă sunt egale (identice); acesta este tipul normal de crossing over, cu ruperi şi schimburi simetrice (egale) de segmente cromatidice:



2) **crossing over inegal**, atunci căND chiasma şi, respectiv, schimbul segmentelor cromatidice care se schimbă sunt inegale. În cazul crossing over-ului inegal dispare condiția de heterozigoție a cromozomilor omologi. Datorită acestui tip aparte de crossing over, într-o cromatidă remaniată vor apare una sau mai multe gene în dublu exemplar, iar fenomenul se numeşte duplicție, iar în cealaltă cromatidă vor lipsi genele respective, de unde şi denumirea de deficiență (vezi figura de mai jos).

Crossig over-ul inegal şi consecințele sale asupra cromatidelor implicate

Sturtevant şi Morgan (1923) au observat crossing over-ul inegal la *Drosophila*, la locusul B, segmentul 16 A din cromozomul X. Ochiul normal (B.) are un singur segment 16 A, în timp ce ochiul Bar (BB) este o duplicație în tandem cu două segmente 16 A, iar ochiul Bar (BBB) reprezintă o triplicație cu trei segmente 16 A. Dela ochiul normal (forma rotundă), se ajunge la ochi mici, de formă oblongă – tipul Bar – şi la ochi foarte mici - la tipulduble Bar- , relevând în mod evident efectul de dozaj al genelor.

3) **crossing over-ul nelegitim**, atunci când chiasma apare între cromozomi heteromorfici care au porțiuni (zone) homoloage sau parțial homoloage (la indivizi haploizi sau poliploizi).

c) *după complexitatea materialului genetic implicat* în crossing over distingem două tipuri:

1) **crossing over intergenic** (între gene) în care schimbul reciproc între cromozomii omologi cuprinde segmente de cromatide (cromozomi) cu una sau mai multe gene. Este tipul obişnuit de crossing over a cărui valoare de schimb depinde de distanța dintre gene.

2) **crossing over intragenic** (în cadrul aceleiaşi gene), reprezintă schimburi reciproce între subunitățile unor gene complexe (loci complecşi), denumite ***subgene*** sau ***pseudoalele***. Aceste subgene (pseudoalele) au apărut în cadrul unor gene prin mutații în diferite zone ale acestora şi care sunt alelice prin funcțiile lor. Subgenele pot fi separate şi relevate fenotipic prin crrosing over itragenic, analizând un număr foarte mare de indivizi, şi în prezența unor gene marker lângă locusul studiat. Pseudoalele sunt detectate fenotipic în poziția "trans", când ele se găsesc plasate diferit pe

cei doi cromozomi pereche, în timp ce in poziția "cis" se manifestă fenotipul sălbatic. Cele două poziții pentru două gene pseudoalele a_1 şi a_2 sunt următoarele:

$\frac{a_1 \quad +}{+ \quad a_2}$ - poziția trans, unde se manifestă fenotipic pseudoalele a_1

$\frac{a_1 \quad a_2}{+ \quad +}$ - poziția cis, unde se manifestă fenotipul sălbatic

Studiul unor gene la *Drosophila melanogaster* a relevat mai mulți loci complexi, cu două sau mai multe pseudoalele. Astfel, Lewis (1955) a oservat crossing over intragenic la locii lozenge, white, forked (în cromozomul X), la locusul star în cromozomul II şi la alți loci. Asemenea loci complecşi au fost descoperiți şi la alte specii de plante şi animale (la bumbac, porumb, şoareci etc.).

2. ALCĂTUIREA HĂRȚILOR CROMOZOMALE

Harta cromozomală constituie reprezentarea grafică a cromozomilor cu indicarea ordinei şi distanței relative a genelor linkage (pe fiecare cromozom). Dacă distanța dintre gene este estimată prin frecvența crossoverelor (în unități Morgan), reprezintă o hartă genetică. În cazul că pentru localizarea genelor pe cromozomi se folosesc observații citologice ale crossoverelor asociate cu mutații, dislocații cromozomale etc., se obține harta citologică. Cele mai complete, sunt ***hărțile citogenetice***,care se alcătuiesc pe baza studiilor citologice ale crossoverelor, asociate cu stabilirea genelor de pe fiecare cromozom şi a distanțelor dintre ele (proporționale cu frecvența crossoverelor).

Alcătuirea hărților genetice presupune o serie de etape, şi anume:

- delimitarea grupelor linkage prin identificarea unor gene marker în fiecare cromozom (gene care se transmit în bloc), folosind fenomenul de aneuploidie;
- stabilirea distanței dintre genele din acelaşi cromozom prin determinarea frecvenței crossoverelor;
- determinarea ordinei (poziției) genelor în cromozomi.

Întrucât primele două etape de alcătuire a hărților cromozomale fac obiectul a două capitole distincte în prezentul manual, ne vom referi în continuare la ultimele două etape, care se bazează pe valorificarea fenomenului de crossing over.

Rezumat: Teoria cromozomala a eredității; Inlănțuirea genelor dispuse in acelasi cromozom (linkage); Schimbul reciproc de gene (crossing-over-ul); Factorii care influentează crossing – over-l; Tipuri de crossing – over; Alcătuirea hărtilor cromozomale

Test autocontrol:

7	Culoarea ochilor la *Drosophila melanogaster* reprezinta:	a) pleiotropie
		b) polihibridare
		c) serie alelica
8	In cazul unei trihibridari, sunt luate in considerare trei caractere ale genitorilor. Cate combinatii apar in generatia F_2	a) 16
		b) 64
		c) 27
9	T.H. Morgan a elaborat :	a) doua legi ale ereditatii
		b) patru teorii privind ereditatea
		c) trei teze ale ereditatii
10	Procentul de crossovere reprezinta:	a) distanta dintre doi cromozomi
		b) distanta dintre doua celule
		c) distanta dintre doua gene plasate pe acelasi cromozom
11	In urma crossing-over-ului dintre doi cromozomi, rezulta:	a) doua cromatide parentale si doua recombinate
		b) patru cromatide parentale
		c) patru cromatide recombinate
12	In cazul incrucisarii unui individ cu genotipul AaBbCcDd (gene linkage complet) cu un individ cu genotipul aabbccdd, va apare urmatorul raport :	a) 3 :2
		b) 1:1
		c) 1:1:1:1
13	Dupa diviziunea in care apare, crossing-over-ul poate fi:	a) egal si inegal
		b) mitotic si meiotic
		c) intragenic si intergenic
14	De ce difera rezultatele hibridarilor efectuate de Mendel de cele effectuate de Morgan?	a) primul a studiat gene independente, iar Morgan gene plasate pe acelasi cromozom
		b) unul a studiat caractere calitative, iar celalalt cantitative
		c) au studiat specii diferite
15	Cele mai complete harti sunt	a) hartile cromozomale
		b) hartile genetice
		c) hartile citologice

CAPITOLUL IV

GENETICA CANTITATIVĂ

1. DETERMINISMUL GENETIC AL CARACTERELOR CANTITATIVE

Caracterele mendeliene care au făcut obiectul de studiu într-un capitol precedent sunt denumite caractere **calitative,** controlate de **gene** majore (mendeliene), cu efecte marcante asupra fenotipului şi care practic, nu sunt influenţate de condiţiile de mediu. Cel mai adesea, un caracter calitativ este controlat de o singură genă majoră (mendeliană).

Majoritatea caracterelor şi însuşirilor organismelor nu se manifestă însă, prin diferenţe pregnante, fiind uneori imposibil de a separa fenotipurile cu variaţii mici şi greu de sesizat. Numeroase caractere cu importanţă economică precum elementele de productivitate (numărul de fraţi, numărul de inflorescenţe, numărul de boabe, greutatea fructelor sau seminţelor pe plantă, etc), capacitatea de producţie (producţia de seminţe, fructe, de masă vegetativă sau producţia de lână, lapte, ouă etc), însuşirile fiziologice (rezistenţă la ger, la secetă, la cădere etc), însuşirile biochimice (conţinutul în proteine, în ulei, în aminoacizi etc) prezintă o gamă continuă de fenotipuri între minus şi plus varianta (variaţie continuă). Aceste caractere sau însuşiri ale organismelor se pot număra, cântări sau măsura, exprimându-se numeric prin diferite valori care indică expresia lor fenotipică. Asemenea caractere au fost denumite **caractere metrice sau cantitative,** iar ramura geneticii care se ocupă cu studiul lor a căpătat denumirea de **genetică cantitativă.** În controlul expresiei fenotipice a caracterelor cantitative sunt implicate două sau mai multe perechi de gene denumite **gene multiple, poligene sau gene minore;** fiecare genă contribuie la realizarea fenotipului într-o anumită proporţie şi foarte discret, încât sunt necesare metode destul de complicate pentru determinarea efectului lor. De asemenea, caracterele cantitative sunt influenţate putemic de factorii de mediu, care pot determina deviaţii ale fenotipului într-un sens sau altul.

Genele care intervin în controlul caracterelor cantitative pot avea efecte aditive şi egale, efecte aditive şi inegale şi efecte opoziţionale. Pe lânga genele multiple cu efecte aditive care au ponderea cea mai mare în cadrul varianţei genetice, pot interveni şi unele gene nealele cu moduri de acţiune diferite.

În general, genele multiple implicate în manifestarea unui caracter cantitativ sunt situate în cromozomi neomologi (gene independente). Prezenţa în acelaşi cromozom a mai multor loci din acelaşi sistem de gene multiple (apăruţi prin duplicaţie) constituie o piedică puternică în obţinerea unor genotipuri care să posede fie numai alele pozitive (active sau contribuitoare) fie numai alele negative (inerte sau neutrale).

La începutul geneticii mendeliene se considera că există o diferenţă fundamentală între caracterele calitative şi cele cantitative. Revine meritul lui **Nilsson-Ehle** (1909), de a elucida legătura între aceste două tipuri de caractere. Una dintre experienţele clasice care i-a permis să explice mecanismul eredităţii cantitative a constat în încrucişarea unui soi de grâu cu boabe de culoare roşie foarte intensă cu un soi cu boabe albe. În F_1 toţi indivizii erau omogeni, având boabe de culoare roşie intermediară, iar în F_2 a rezultat un raport global de segregare de 15 roşii : 1 alb. După gruparea atentă a indivizilor după intensitatea culorii bobului au rezultat 5 clase fenotipice, cu variaţie continuă, într-un raport de 1:4:6:4:1. El a interpretat aceste rapoarte fenotipice de segregare ca reprezentând segregarea a două perechi de alele cu efecte individuale cumulative care determină acelaşi caracter (vezi figura 10. 1.).

Fig. 10. 1. Ereditatea culorii bobului

	Roşu intens		**Alb**
P	**$R_1R_1R_2$ R_2**		**$r_1r_1r_2r_2$**
G	**R_1R_2**	**x**	**r_1r_2**
F_1	**$R_1r_1R_2r_2$ - roşu intermediar**		
	Autofecundare		

F_2

G ♀ ♂	R_1R_2	R_1r_2	r_1R_2	r_1r_2
R_1R_2	$R_1R_1R_2R_2$	$R_1R_1R_2r_2$	$R_1r_1R_2R_2$	$R_1r_1R_2r_2$
R_1r_2	$R_1R_1R_2r_2$	$R_1R_1r_2r_2$	$R_1r_1R_2r_2$	$R_1r_1r_2r_2$
r_1R_2	$R_1r_1R_2R_2$	$R_1r_1R_2r_2$	$r_1r_1R_2R_2$	$r_1r_1R_2r_2$
r_1r_2	$R_1r_1R_2r_2$	$R_1r_1r_2r_2$	$r_1r_1R_2r_2$	$r_1r_1r_2r_2$

Din analiza generației F_2 rezultă că:

1/16 $R_1R_1R_2R_2$	4/16 $R_1R_1R_2r_2$ $R_1R_1r_2R_2$ $R_1r_1R_2R_2$ $R_1r_1R_2r_2$	6/16 $R_1R_1r_2r_2$ $R_1r_1R_2r_2$ $R_1r_1R_2r_2$ $R_1r_1R_2r_2$ $R_1r_1R_2r_2$ $r_1r_1R_2R_2$	4/16 $R_1r_1r_2r_2$ $r_1R_1R_2r_2$ $r_1r_1R_2r_2$ $r_1r_1r_2R_2$	1/16 $r_1r_1r_2r_2$
roşu foarte intens	roşu intens	roşu interm.	roşu deschis	alb
4 alele active	3 alele active	2 alele active	1 alelă activă	0 alele active

Fiecare alelă activă R_1 şi R_2 contribuie cu o anumită parte la determinarea culorii roşii, fiind denumite gene active (contribuitoare sau favorabile), în timp ce alelele r_1 şi r_2 determină numai culoarea albă (fenotipul rezidual), fiind denumite gene inerte (neutrale). Deci, distribuția genotipurilor şi fenotipurilor calculate pe baza alelelor active şi a celor neutrale este de 1:4:6.4.1, adică 1/16 posedă 4 alele active, 4/16 posedă 3 alele active, 6/16 posedă 2 alele active, 4/16 prezintă o singură alelă activă şi 1/16 nu au nici o alelă activă.

În alte experienţe similare s-a găsit că la grâu, culoarea boabelor este controlată de trei perechi de gene. În acest caz, raportul general de segregare a fost de 63 boabe roşii de diferite nuanţe: 1 bob alb, rezultând 47 clase fenotipice de la roşu la alb în proporţie de 1:6:15:20:15:6:1. Din cele prezentate mai sus, rezultă că pe masură ce numărul de gene implicate în determinismul unui caracter cantitativ creşte, numărul claselor fenotipice creşte progresiv după o distribuţie binomială, în timp ce frecvenţa claselor extreme descreşte.

În genetica cantitativă, ca dealtfel şi în genetica calitativă, se folosesc frecvent noţiunile de "caracter" şi "însuşire". Considerăm necesar să precizăm că prin **caracter** se înţelege o particularitate

morfologică sau anatomică, iar prin **înşuşire** se înţelege o particularitate fiziologică, biochimică, tehnologică sau adaptativă.

Pentru studiul ereditaţii şi variabilitaţii caracterelor cantitative se fac în mod obligatoriu măsurători, numărători sau cântăriri asupra unor populaţii de indivizi, urmate de gruparea, prelucrarea şi interpretarea datelor. Ştiinţa care indică metodele de calcul, de sinteză şi de interpretare a rezultatelor experimentale privind modul de transmitere al caracterelor cantitative de la părinţi la urmaşi, poartă denumirea de **biometrie, genetică cantitativă, biostatistică** sau **genetică statistică. Karl Pearson** a definit biometria ca fiind "ştiinţa ce utilizează metodele matematice în studiul eredităţii şi variabilităţii vieţuitoarelor". Biometria derivă de la cuvintele greceşti "bios" - viaţă şi "metros"- a măsura.

Obiectul biometriei îl constituie **variaţiiie** care se prezintă sub formă de valori numerice rezultate din măsurători, numărători, cântăriri, analize etc, efectuate asupra organismelor întregi sau a unor părţi ale acestora (spice, boabe, inflorescenţe, frunze, ramuri etc). Biometria operează cu date biologice şi permite compararea populaţiilor experimentale (soiuri, linii, hibrizi, suşe, cloni etc) cu populaţiile ideale, formulând concluzii teoretice şi practice pe baza datelor experimentale.

Analiza genetică a caracterelor cantitative trebuie să raspundă unor exigenţe care să sporească eficacitatea selecţiei în procesele de ameliorare. Astfel, orice analiză genetică trebuie să rezolve în principal, urmatoarele probleme:

- să precizeze contribuţia genotipului (G) şi a mediului (E) în exprimarea fenotipică a diferitelor caractere în cadrul unui eşantion de indivizi;
- să calculeze diferenţele dintre diferite populaţii şi să stabilească semnificaţia (veridicitatea) acestor diferenţe;
- să calculeze principalele valori (indici statistici) care furnizează informaţii cât mai precise asupra gradului de variabilitate al caracterelor analizate;
- să permită compararea valorilor empirice calculate pe probe medii cu valorile teoretice ale populaţiilor statistice, care să indice corespondenţa între, datele experimentale şi cele teoretice;
- să stabilească tipul şi gradul de corelaţie dintre caracterele analizate;
- să calculeze diferenţele de selecţie, progresul genetic şi indexul de selecţie pentru caracterele cu importanţă economică.

În perioada 1910-1913 ***EM.*** **East** şi colaboratorii (citaţi de T.Crăciun şi colab., 1978) au studiat ereditatea **dimensiunilor ştiuletelui la porumb,** ajungând la concluzii similare cu cele ale lui Nilsson-Ehle. Pentru relevarea eredităţii lungimii ştiuletelui de porumb, E.M. East a încrucişat un soi de porumb zaharat cu ştiulete lung cu un alt soi de porumb de floricele cu ştiulete mic, obţinând în F_1 ştiuleţi de lungime intermediară între cei doi părinţi. Studiul generaţiei F_2 a evidenţiat o mare variabilitate a lungimii ştiuletelui între limite foarte largi, având o frecvenţă maximă indivizii din clasele de lungime mijlocie, in timp ce variabilele extreme au avut o frecvenţă foarte mică. Gruparea indivizilor din F_2 în clase fenotipice (după lungimea ştiuleţilor) a dus la obţinerea a 5 clase într-un raport de 1:4:6.4:1, sugerând faptul că acest caracter este controlat de două perechi de gene multiple.

Tot **E.M. East** (1916) a pus în evidenţă ereditatea cantitativă a **lungimii corolei la florile de tutun.** Pentru aceasta el a încrucişat două soiuri pure de *N. longiflora* cu un soi cu tubul corolei lung şi celălalt cu tubul corolei scurt. În F_1 plantele aveau flori cu lungime mijiocie a corolei, iar în F_2 s-a observat o mare variabilitate a acestui caracter, fără a se găsi indivizi cu valorile extreme ale părinţilor. Autorul a explicat acest fenomen prin implicarea unui numar relativ mare de gene multiple, ceea ce a determinat apariţia cu frecventă redusă a formelor extreme. Reapariţia formelor parentale ar fi posibilă în contextul unei populaţii hibride F_2 mult mai numeroase.

Ulterior, au fost studiate numeroase caractere cantitative determinate de sisteme de gene multiple cu efecte aditive la mazăre, soia, grâu, gura leului, tomate, etc.

2. SISTEME DE GENE MULTIPLE

De la început geneticienii s-au preocupat de stabilirea relaţiilor alelice şi intergenice din cadrul sistemelor poligenice.

În experientele de pionierat ale lui **Nillson-Ehle** efectuate la grâu s-a descoperit faptul că genele multiple implicate în culoarea bobului au efecte egale şi aditive. Ulterior, odată cu diversificarea şi dezvoltarea cercetărilor de genetică cantitativă s-au descoperit şi alte sisteme de gene multiple: cele cu efecte inegale şi aditive şi cele cu efecte opoziţionale, precum şi relaţia genelor multiple cu gene din afara sistemului poligenic (gene cu dominanţă totală, gene epistatice, gene modificatoare etc).

Pentru relevarea relaţiilor posibile dintre genele multiple să presupunem că avem un sistem poligenic cu 4 perechi de gene care controlează un anumit caracter cantitativ. Unul dintre părinţi are genele active (contribuitoare), respectiv $A_1A_1A_2A_2A_3A_3$ (P_1), iar celălalt părinte are numai genele neutrale, respectiv $a_1a_1a_2a_2a_3a_3a_4a_4$ (P_2). Dacă se consideră că fiecare alelă activă contribuie la realizarea caracterului cu trei unităţi, iar o alelă neutrală contribuie cu o singură unitate, atunci putem să exemplificăm principalele modele de sisteme poligenice **(T.Crăciun** şi colab., după **V. Granth,** 1964; 1975).

2. 1. SISTEME DE GENE MULTIPLE CU EFECTE EGALE ŞI ADITIVE (MODELE POLIMERICE).

În acest sistem, genele implicate au efecte egale şi aditive, iar modul lor de comportare în F_1 şi F_2 se prezintă astfel:

P_1: $A_1A_1A_2A_2A_3A_3A_4A_4$ = 6 + 6 + 6 + 6 = 24

P_2: $a_1a_1a_2a_2a_3a_3a_4a_4$ = 2 + 2 + 2 + 2 = 8

F_1: $A_1a_1A_2a_2A_3a_3A_4a_4$ = 4 + 4 + 4 + 4 = 16 (intermediar)

În F_2, vor rezulta 9 clase fenotipice cu variaţie continuă, în raportul de 1:8:28:56:70:56:28:8:1, cu valorile extreme de 1/256 $A_1A_1A_2A_2A_3A_3A_4A_4$ - 1/256 $a_1a_1a_2a_2a_3a_3a_4a_4$. Reprezentarea grafică a distribuţiilor din F_2 determină o curbă normală şi simetrică cu extremele 8 şi 24, iar media de 16 (la mijlocul curbei).

Dacă la unul dintre loci, între cele două alele apare relaţia de dominanţă şi recesivitate, de exemplu între A_1 şi a_1, atunci valoarea şi distribuţia fenotipurilor va fi următoarea:

P_1: $A_1A_1A_2A_2A_3A_3A_4A_4$ = 6 + 6 + 6 + 6 = 24

P_2: $a_1a_1a_2a_2a_3a_3a_4a_4$ = 2 + 2 + 2 + 2 = 8

F_1: $\underline{A_1}\,\underline{a_1}A_2a_2A_3a_3A_4a_4$ = 6 + 4 + 4 + 4 = 18

În scest caz, valoarea hibridului F_1 nu mai este intermediară (este mai mare), iar în F_2 rezultă tot 9 clase, însă curba de variaţie va fi asimetrică, deviată spre părintele P_1.

2. 2. SISTEME DE GENE MULTIPLE CU EFECTE INEGALE ŞI ADITIVE (MODELE ANISOMERICE).

În acest caz, alelele din sistem au contribuţii diferite (inegale) la realizarea fenotipului. Dacă în exemplul folosit locusul A_1 are efecte triple faţă de locii A_2, A_3 şi A4 (în lipsa dominanţei totale), modelul anisomeric se prezintă astfel:

P_1: $A_1A_1A_2A_2A_3A_3A_4A_4$ = 18 + 6 + 6 + 6 = 36

P_2: $a_1a_1a_2a_2a_3a_3a_4a_4$ = 6 + 2 + 2 + 2 = 12

F_1: $A_1a_1A_2a_2A_3a_3A_4a_4$ = 12 + 4 + 4 + 4 = 24

F_1: $A_1A_1A_2A_2A_3A_3A_4A_4$ ⟷ $a_1a_1a_2a_2a_3a_3a_4a_4$

1/256 1/256

Şi în scest caz, în F_1 hibrizii prezintă valori intermediare, iar în F_2 ei se distribuie tot după o curbă simetrică, cu un număr mai mare de clase fenotipice şi cu o frecvenţă mai redusă a indivizilor cu valori mijlocii. Dacă una dintre perechile de gene manifestă dominanţă totală (de exemplu, $A_1 > a_1$), atunci în F_1 şi în F_2 curba de variaţie suferă o deviaţie spre părintele P_1 cu alela dominantă:

P_1: $A_1A_1A_2A_2A_3A_3A_4A_4$ = 18 + 6 + 6 + 6 = 36

P_2: $a_1a_1a_2a_2a_3a_3a_4a_4$ = 6 + 2 + 2 + 2 = 12

F_1: $\underline{A_1}\,\underline{a_1}A_2a_2A_3a_3A_4a_4$ = 12 + 4 + 4 + 4 = 24

Deci hibridul $F_1 > (P_1 + P_2) / 2$

2. 3. SISTEME DE GENE MULTIPLE CU EFECTE OPOZITIONALE

În scest caz, unele gene din sistem acţionează în sens pozitiv, iar altele în sens negativ. Expresia fenotipică rezultă din suma algebrica a genelor multiple implicate. Folosind tot exemplul anterior cu 4 loci, în care gena A_1 are efect pozitiv, iar genele A_2 , A_3 şi A_4 au efecte negative, rezultă urmatoarele fenotipuri:

P_1: $A_1A_1A_2A_2A_3A_3A_4A_4$ = 54 - 6 - 6 - 6 = 36

P_2: $a_1a_1a_2a_2a_3a_3a_4a_4$ = 18 - 2 - 2 - 2 = 12

F_1: $A_1a_1A_2a_2A_3a_3A_4a_4$ = 36 - 4 - 4 - 4 = 24

Se observă că şi în această situaţie, fenotipul este intermediar în F_1, iar în F_2, anumite genotipuri (combinaţii de gene) depăsesc valorile extreme, datorită segregării transgresive. Astfel, genotipul $A_1A_1a_2a_2a_3a_3a_4a_4$ cu fenotipul 54 -2-2-2-2 = 48, care depaşeşte cu mult parintele cu fenotipul maximal (P_1 = 36) şi este dublu comparativ cu F_1 = 24, în timp ce genotipul $a_1a_1A_2A_2A_3A_3A_4A_4$ cu fenotipul 18 - 2 – 6 - 6 = 4 este cu mult inferior părintelui minimal (P_2 = 12). O situaţie similară apare şi în F_1, în situaţia în care la unii loci din sistemele opoziţionale sunt implicate gene majore cu dominanţă completă. Astfel, dacă perechea de alele multiple cu efecte pozitive A_1a_1 manifestă dominanţă totală în F_1, atunci genotipul din F_1 ($A_1a_1A_2a_2A_3a_3A_4a_4$ a_4) cu fenotipul 54 – 4 – 4 – 4 = 42 depăşeşte părintele maximal, P_1 cu fenotipul 54 – 6 – 6 – 6 = 32.

3. CONSANGVINIZAREA

Consangvinizarea reprezintă autofecundarea forțată a plantelor alogame sau încrucişarea între indivizi înrudiți, la animale şi om, (frate x soră, tată x fiică, mamă x fiu).

Descendența consangvină timp de mai multe generații succesive a unei plante alogame sau a unei perechi de indivizi (la animale) este cunoascută sub denumirea de *linie consangvinizată*.

Efectul major al consangvinizării este obținerea de genotipuri noi, homozigote, ca urmare a desfacerii populației autofecundate în genotipurile componente. Astfel, consangvinizarea reprezintă o altă sursă importantă de variabilitate genetică.

Consangvinizarea constituie o metodă utilizată în ameliorarea numeroaselor specii de plante alogame (porumb, floarea soarelui, sfeclă, ceapă, varză, morcov, castraveți, etc.), precum şi la unele specii de animale (păsări, porci etc.).

3. 1. EFECTELE FENOTIPICE ALE CONSANGVINIZĂRII

Datorită consangvinizării, are loc o reducere puternică a vitalității, care afectează capacitatea de creştere, de reproducere şi de adaptare, mai ales după prima autofecundare forțată (C_1). Aceste fenomen cunoscut şi sub denumirea de de *depresiune de consangvinizare*, variază foarte mult cu specia de plante. Astfel, este nulă la dovleac, foarte mică la sfeclă şi foarte puternică la porumb, floarea soarelui, varză, salată, ceapă, morcov, etc. Reducerea vitalității are loc până la $C_7 – C_8$, când se ajunge la un *minim de consangvinizare*.

Scăderea vitalității este marcată de reducerea taliei, a suprafeței foliare, diminuarea elementelor de productivitate şi, respectiv, scăderea evidentă a producției, apariția unor deficiențe clorofiliene etc.

Un efect fenotipic important îl reprezintă scăderea rezistenței liniilor de consangvinizare la anumiți factori de mediu datorită îngustării bazei genetice.

Odată cu creşterea numărului de generații consangvine se realizează uniformitatea fenotipică a liniilor consangvinizate, care practic după 7-10 generații sunt homozigote la majoritatea locilor.

3.2 EFECTELE GENOTIPICE ALE CONSANVINIZĂRII

Cele mai importante efecte genotipice sunt următoarele:

-*segregarea puternică în primele generații de autofecundare şi desfacerea populației în biotipurile componente* care pot fi : homozigot-recesive, homozigot-dominante, homozigot-recesive pentru anumiți loci şi homozigot-dominante pentru alți loci. De exemplu, individul cu genotipul AaBbCcDd poate segrega în biotipurile:

AaBbCcDd	AaBbCcDd
aaBbCcDd	AABbCcDd
aabbCcDd	AABBCcDd
aabbccDd	AABBCCDd

aabbccdd –homozigot recesiv AABBCCDD-homozigot dominant

AaBbCcDd
AAbbCcDD
aaBBCCDD- homozigoți recesivi şi dominanți
AABBccDD
AABBCCdd
AAbbCCdd .....

Genotipurile homozigot-recesive se identifică relativ uşor şi prezintă în unele cazuri caracteristici dăunătoare, cum ar fi: plante pitice, debile, sterile, cu deficienţe clorofiliene etc. Ele pot fi identificate în C_1 sau C_2 şi pot fi eliminate uşor.

- *creşterea homozigoţiei odată cu numărul de generaţii consangvine*. Indicele folosit frecvent pentru aprecierea gradului de homozigoţie într-o populaţie autopolenizată în funcţie de numărul locilor luaţi în considerare, generaţia de consangvinizare şi numărul indivizilor dintr-o generaţie de consangvinizare, este coeficientul de consangvinizare, notat cu F, care se calculează după formula:

$$F^n_t = \left[1(1 - i/2N)^t\right]^n$$

In care: F= coeficientul de consangvinizare, care nu se confundă
cu simbolul pentru generaţiile hibride;
t = numărul generaţiei de consangvinizare (se numerotează cu cifre romane: I, II, III,....);
N= numărul total de indivizi dintr-o generaţie consangvină.

Din formulă se observă că, cu cât numărul de generaţii, numărul de indivizi şi de loci sunt mai mari cu atât coeficientul de consangvinizare este mai mic.

Exemplu de calcul:

1. Să se calculeze coeficientul de consangvinizare pentru un singur locus (n=1), în generaţia a patra în cazul unei populaţii de 50 indivizi (N=50) . Înlocuind în formulă rezultă:

$$F_{1V}^{1} = \left[1 - (1 - 1/2.50)^4\right]^1 = 1\text{-}(-99/100)^4 = 0.0394 = 3.94\%$$

2. Să se calculeze coeficientul de consangvinizare pentru patru loci în generaţia IV, la o pupulaţie de 50 indivizi.

$$F_{1V}^{4} = \left[1 - (1 - 1/2.50)^4\right]^4 = \left[1 - (99/1000)^4\right]^4 = 0.00024$$

În acest caz se realizează o homozigoţie redusă fată de exemplul precedent.

3.3 IMPORTANŢA LINIILOR CONSANGVINIZATE

Aşa cum s-a arătat, liniile consangvinizate au în general, vitalitate redusă, motiv pentru care nu pot fi folosite direct în producţie. Cu toate acestea, la majoritatea speciilor alogame anuale, obţinerea şi folosirea liniilor consangvinizate în ameliorarea acestor specii, este o metodă eficace din următoarele considerente majore:

- unele linii consangvinizate sunt valoroase datorită manifestării unor gene recesive în stare homozigotă, care controlează caractere şi însuşiri dorite de om, cum ar fi: port erect, tufă compactă, frunze sesile, conţinut redus în alcaloizi, rezistenţă mare la anumiţi factori de mediu, etc.;
- obţinerea efectului heterozis prin încrucuşarea liniilor consangvinizate şi obţinerea hibrizilor comerciali F_1, care treptat tind să înlocuiască soiurile la numeroase specii de plante.

4. HETEROZISUL

Heterozisul este fenomenul opus consagvinizării, care reprezintă expresia genetică favorabilă a hibridării. Cu alte cuvinte, **heterozisul** reprezintă creşterea vigorii hibride în F_1 în urma încrucişării între forme (linii consagvinizate, soiuri, etc.) diferite genetic. Începând cu generaţia F_2, efectul heterozis scade datorită segregării.

Fenomenul de heterozis are un rol deosebit în ameliorarea plantelor alogame, el putându-se fixa la plante cu înmulţire vegetativă. De asemenea, heterozisul se manifestă şi la plantele autogame (tomate, ardei, etc.).

Intensitatea heterozisului este foarte mare la încrucişarea între linii consangvinizate sau între soiuri (linii pure) şi scade la încrucişarea între forme cu grad ridicat de heterozigoţie.

Fenomenul heterozis afectează atât caracterele cantitative (elemente de productivitate, însuşiri biochimice, însuşiri fiziologice etc), cât şi o serie de carctere calitative (culoarea şi forma unor gene, etc.).

După natura caracterelor şi însuşirilor afectate se disting următoarele tipuri de heterozis (**Gustafsson**, 1951):

- **heterozis reproductiv** – când în F_1 sporeşte productiviteatea de semințe şi respectiv, producția de fructe;
- **heterozis somatic** – când în F_1 creşte considerabil masa vegetativă;
  -heterozis adaptiv – când în F_1 se înregistrează o creştere a rezistenței plantelor la anumiți factori de mediu; acest tip de heterozis apare mai ales la încrucişările îndepărtate.

Efectul heterozis (H_{F1}) se calculează frecvent în două moduri, şi anume:

$H_{F1} = X_{F1} - (XP_1 + XP_2)/2$ sau:

$H_{F1} = X_{F1} - X_{Pmax}$

În care: X_{F1} = media aritmetică a populației F_1 pentru caracterul analizat;

XP_1 = media aritmetică a populației părintelui cu valoarea fenotipică maximă, notat cu P_1.

XP_2 = media aritmetică a populației părintelui cu valoarea minimă, notat cu P_2.

În generațiile următoare, efectul heterozis scade cu 50% de la o generație la alta datorită reducerii heterozigoților cu câte 50%.

Astfel, $HF_2 = 1/2\ H_{F1}$ $H_{F3} = 1/2\ HF_2$ etc.

Teorii care explică fenomenul heterozis. Dintre teoriile care încearcă să explice fenomenul heterozis, cele mai acceptate sunt următoarele:

a) teoria dominanței (A.B. Bruce şi B.C. Davenport, 1910) care presupune că vigoarea hibridă este atribuită acțiunii factorilor dominanți asupra creşterii şi vigorii plantelor, fiecare cuplu de alele heterozigote având o valoare fenotipică egală cu perechea homozigotă parentală dominantă, adică Aa = AA.

Exemplu: să acceptăm că un anumit caracter cantitativ este controlat de 4 perechi de grupe multiple şi că fiecare genă activă contribuie la realizarea fenotipului cu 2 unități, iar fiecare genă neutrală cu o unitate. Rezultă că:

P	AAbbCCdd	x	aaBBcccDD
	2+1+2+1 = 6		1+2+1+2 = 6

F_1	AaBbCcDd	
	2+2+2+2 = 8	

Se observă că hibridul F_1 are o valoare fenotipică superioară părinților.

b)teoria supradominanței (G.H. Schull,1945) presupune că vigoarea hibridă în F_1 se datorează faptului că heterozigotul F_1 depăşeşte părintele homozigot dominant. Adică, Aa >AA. Față de exemplul precedent, genotipul Aa = 2.5 unități, față de Aa = 2 unități şi aa = 1 unitate.

P	AABBCCDD	X	aabbccdd
	2+2+2+2 = 8		1+1+1+1 = 4

F_1	AaBbCcDd	
	2.5+2.5+2.5+2.5 = 10	

Rezultă că, hibridul F_1 are o valoare fenotipică mai mare decât părintele homozigot dominant.

c) teoria heterozigoției (G.H. Schull, E.M. East şi H.K. Hayes, 1912) se bazează pe faptul că, cu cât în F_1 se acumulează mai multe gene opuse (heterozigote), cu atât efectul heterozis este mai puternic, atingând valoarea maximă la hibrizii F_1 cu heterozigoție la toți locii. Deci, efectul heterozis este direct proporțional cu numărul de gene în stare heterozigotă.

Alte teorii explică insuficient fenomenul heterozis sau se referă la cazuri limitate.

Variabilitate fenotipică înregistrată în F_1 este mai mică decât cea a liniilor consangvinizate parentale, demonstrând că acestea sunt mai sensibile la condiţiile de mediu decât hibrizii F_1. Geneticienii utilizează termenul de *homeostazie* care face aluzie la menţinerea unei stări de echilibru pe plan ontogenetic şi filogenetic, în limitele uzuale ale fluctuaţiilor de mediu.

4.1 IMPORTANŢA PRACTICĂ A HETEROZISULUI

Pe lângă rolul heterozisului în evoluţia plantelor, el este considerat ca o metodă de ameliorare extrem de preţioasă şi benefică pentru sporirea producţiei agricole. Aşa se explică faptul că la numeroase specii agricole hibrizii F_1 se afirmă foarte rapid şi cu siguranţă ei vor înlocui soiurile existente în cultură.

Cercetările efectuate la plantele autogame (Lerber, 1954) au dus la concluzia că efectul heterozis poate fi mare şi foarte important în direcţia heterozisului reproductiv (creşterea producţiei de fructe, de seminţe etc) şi adaptiv, şi mai puţin semnificativ în direcţia creşterii masei vegetative. Odată cu descoperirea sterilităţii mascule şi a genelor restauratoare de fertilitate, precum şi a posibilităţilor de polenizare se asigură premize rapide de ameliorare a unor specii autogame foarte importante cum sunt : grâul, orzul, mazărea, fasolea, soia etc.

Dintre plantele legumicole, tomatele, ardeii, vinetele, castraveţii, pepenii etc., manifestă un pronunţat efect heterozis. La plantele pomicole a fost semnalată o creştere a vigorii hribride la prun şi piersic.

La unele specii de plante heterozisul din F_1 poate fi fixat în descendenţă prin înmulţirea vegetativă a hibrizilor din prima generaţie. Micropropagarea prin culturi de celule şi meristeme apare ca o alternativă rapidă de fixare a heterozisului.

Fixarea heterozisului se poate realiza şi pe diferite căi genetice, precum: inducerea poliploidiei, inducerea unor translocaţii multiple, a unor deficienţe şi inversii cromozomale, etc.

5. HIBRIDAREA TRANSGRESIVĂ (SEGREGAREA SAU VARIAŢIA TRANSGRESIVĂ)

Variaţia transgresivă, ca rezultat al hibridării între forme deosebite genetic are unele efecte asemănătoare cu heterozisul, în sensul că în urma încrucişării apar indivizi cu fenotipuri superioare părinţilor. Deosebirile între cele două fenomene, ambele proprii caracterelor cantitative sunt însă mult mai numeroase. Astfel, heterozisul se manifestă în F_1, în stare heterozigotă şi afectează toţi indivizii acestei generaţii, în timp ce variaţia transgresivă apare începând cu generaţia F_2, în stare homozigotă (stabilă) şi afectează un număr foarte redus de indivizi; heterozisul este rezultatul combinării genelor multiple iar variaţia transgresivă este rezultatul recombinării genelor multiple în urma segregări acestora.

Condiţia esenţială pentru apariţia variaţiilor transgresive (pozitive sau negative) este ca formele parentale să nu reprezinte extreme ale unui caracter poligenic, adică părinţii să nu fie saturaţi în gene active (AABBCCDD) şi, respectiv gene inactive (aabbccdd). Astfel, la o hibridare cu alele active, şi respectiv inactive la doi loci, apariţia variaţiilor transgresive are loc după schema:

P: AAbb x aaBB

F_1: AaBb

F_2: 1/16 AABB - este variaţia transgresiva pozitivă (cu toate alele pozitive), cu un fenotip superior ambilor parinţi.

1/16 aabb - este variaţia transgresivă negativă (cu toate alele negative), cu un fenotip inferior ambilor părinţi.

Între aceste fenotipuri extreme sunt cuprinşi indivizi cu 3 alele pozitive (4/16), cu două alele pozitive (6/16) şi cu o alelă pozitivă (4/16). Deci, raportul fenotipic de segregare este de 1:4:6:4:

La o hibridare transgresivă de tipul AABBCCdd x aabbccDD în F_1 rezultă heterozigotul AaBbCcDd cu un fenotip intermediar, iar în F_2 pot apărea variaţii transgresive pozitive cu o frecvenţă de 1/256 AABBCCDD care depăşeşte părintele maximal şi variaţii transgresive negative cu o frecventă de 1/256 aabbccdd, care au fenotipuri inferioare părintelui minimal.

Frecvenţa variaţiilor transgresive este cu atât mai mare cu cât numărul genelor multiple ce determină caracterul luat în considerare este mai mic şi invers. Aceasta înseamnă că la caracterele determinate de un număr relativ mare de gene trebuie să avem o descendenţă foarte numeroasă în generaţiile de segregare.

Probabilitatea de a se încrucişa indivizi cu alele opuse, care să dea forme transgresive în generaţiile segregante (F_2, backcross, etc.) depinde de numărul combinaţiilor hibride. Cu cât numărul şi diversitatea partenerilor de încrucişare este mai mare, cu atât şansa de a se întâlni "parteneri ideali" este mai mare. În acest scop, hibridările dialele cu parteneri foarte diferiţi genetic şi numeroşi sunt cele mai recomandate şi folosite în acest scop.

Rezumat: Determinismul genetic al caracterelor cantitative; Sisteme de gene multiple**;** Sisteme de gene multiple cu efecte egale şi aditive (modele polimerice); Sisteme de gene multiple cu efecte inegale şi aditive (modele anisomerice); Sisteme de gene multiple cu efecte opozitionale**;** Consangvinizarea**;** Efectele fenotipice ale consangvinizării**;** Efectele genotipice ale consanvinizării**;** Iportanţa liniilor consangvinizate**;** Heterozisul**;**Importanţa practică a heterozisului**;** Hibridarea transgresivă (segregarea sau variaţia transgresivă)

Test autocontrol:

16.	In controlul genetic al unui character cantitativ sunt implicate:	a) o singura gena
		b) una sau doua gene
		c) doua sau mai multe gene
17.	Daca un caracter cantitativ este controlat de doua gene, in F_2 va apare un raport:	a) 9:3:3:1
		b) 1:4:6:4:1
		c) 63:1
18.	Depresiunea de consangvinizare apare:	a) dupa prima generatie de consangvinizare
		b) dupa a doua generatie de consangvinizare
		c) dupa a patra generatie de consangvinizare
19.	Liniile consangvine pot fi utilizate:	a) in productie
		b) in ameliorare
20.	Coeficientul de consangvinizare F, poate avea valori cuprinse intre:	a) 0 si 1
		b) 10 si 20
		c) 20 si 30
21.	Consangvinizarea poate avea efecte:	a) individuale
		b) punctiforme
		c) fenotipice si genotipice
22.	Efectul heterozis se poate mentine:	a) cel putin trei generatii
		b) o singura generatie
		c) mai multe generatii
23.	Heterozisul poate fi:	a) reproductiv
		b) adaptativ
		c) reproductiv, somatic, adaptativ
24.	Prin heterocromozomi se intelege:	a) cromozomi omologi
		b) cromozomi nepereche
		c) cromozomii sexului

CAPITOLUL V

DETERMINISMUL GENETIC AL SEXELOR

1. CONSIDERAȚII GENERALE

Caracterele sexuale de ordin morfologic, anatomic, fiziologic, comportamental sunt foarte bine exprimate la animale şi la om. La plantele superioare ele sunt mai puțin distincte, deoarece atât în cazul speciilor dioice, cât şi unisexuat-monoice, diferențele dintre exemplarele mascule sau femele şi respectiv, dintre ramurile cu flori mascule sau female, se limitează adeseori numai la structura aparatelor florifere.

Caracterele sexuale primare sunt controlate genetic (cele care asigură formarea unui anumit gen de celule sexuale, diferențe în structura organelor de reproducere), iar caracterele sexuale secundare sunt sub influența sistemului hormonal (vocea la om etc).

Sexualitatea prezintă importanță prin faptul că asigură variabilitatea genetică a populațiilor. În cursul evoluției, selecția naturală acționează pe fondul acestei varaiabilități imense, care permite supraviețuirea şi reproducerea indivizilor celor mai bine adaptați la condițiile noi de mediu.

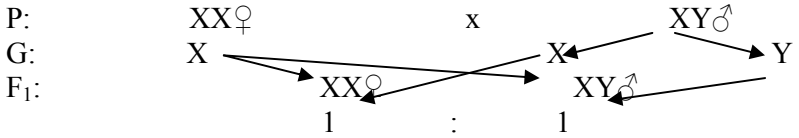
Reproducerea sexuată reprezintă tipul de înmulțire cel mai răspândit în lumea plantelor şi animalelor, ea realizându-se foarte diferit pe scara evoluției organismelor.

Prin reproducerea sexuată alogamă se asigură încrucişarea între indivizi diferiți genotipic, care determină creşterea vigorii şi a capacității de adaptare a organismelor, fenomen cunoscut sub denumirea de heterozis. În acest sens, plantele alogame s-au adaptat pe diferite căi la prevenirea autofecundării (prin decalarea maturității gameților, protandrie şi protoginie, heterostilie, monoicitatea şi dioicitatea, autoincompatibilitatea sau autosterilitatea etc.).

2. DETERMINISMUL CROMOZOMIAL AL SEXULUI

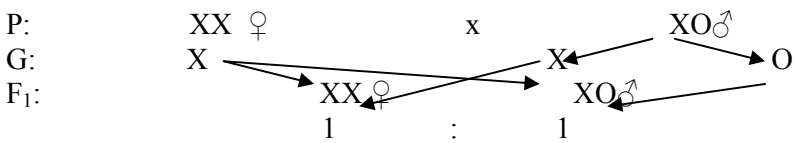
La un număr însemnat de specii de animale şi plante, sexul este determinat de o pereche de cromozomi denumiți **cromozomii sexului** sau **heterozomi**. Unul din sexe este homogametic (produce un singur tip de gameți) şi se notează, de regulă cu **XX**, iar celălalt sex este heterogametic (produce două tipuri de gameți) şi se notează cu **XY** sau **XO**. La unele specii de plante şi animale în determinismul sexului sunt implicați mai mulți heterozomi.

A) Sexul mascul heterogametic. La mamifere (inclusiv om) şi la unele insecte (Diptere) masculii normali au constituția genetică XY şi produc două tipuri de gameți: X şi Y, iar femelele au constituția genetică XX şi produc un singur tip de gameți: X. Acest tip de determinism etse cunoscut sub denumirea de tipul "XY" (tipul *Drosophila*) şi se prezintă astfel:



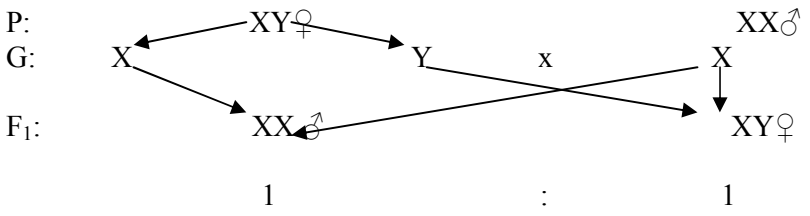
În fiecare generație se asigură astfel, un raport de 1:1 între masculi şi femele.

La anumite insecte din ordinul *Hemiptera* şi *Orthoptera*, masculii sunt de asemenea heterogametici, însă ei conțin un singur cromozom X care nu are un omolog Y (au un cromozom mai puțin). Acest determinism este denumit curent tipul "XO" (tipul Protenor) şi se prezintă astfel:

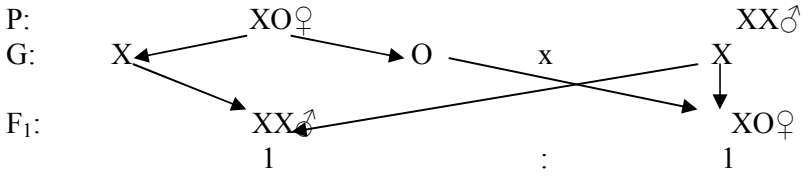


B) Sexul femel heterogametic. Se întâlneşte la insectele din ordinul *Lepidoptera, Trichoptera*, la amfibieni, peşti, păsări etc. Sexul femel heterogametic poate prezenta două tipuri, şi anume: XY(tipul Abraxas) şi XO (tipul fluture). Masculii sunt homogametici XX. Uneori, se notează femelele cu ZW sau ZO, iar masculii cu ZZ, în scopul de a atrage atenția că femela este heterozigotă.

Determinismul de tipul XY (ZW) se prezintă în felul următor:



Determinismul de tipul XO sau ZO se prezintă astfel:



3. DETERMINISMUL GENOMIAL AL SEXULUI

Este cunoscut faptul că albinele mascule (trântorii) se dezvoltă prin partenogeneză din ouă nefecundate şi sunt, deci, haploizi (n). femelele (atât lucrătoarele, cât şi reginele) se dezvoltă din ouă fecundate şi sunt diploide (2n). Nici un cromozom sexual nu este implicat în acest mecanism de deteminare a sexului (caracteristic ordinului *Hymenoptera*, din care fac parte furnicile, albinele, viespile etc.). Cantitatea şi calitatea hranei de care dispun larvele diploide detremină apariția unor "lucratoare sterile" sau a unei "regine fertile". Deci, mediul influențează numai sterilitatea sau fertilitatea, fără să intervină în determinismul sexului care este controlat genetic. Proporția între femele şi masculi în descendență este sub controlul reginei. Majoritatea ouălor depuse de regină (matcă) vor fi fecundate şi vor rezulta femele diploide (lucrătoare) sterile. Ouăle pe care regina le alege nu vor fi fecundate şi vor da naştere la masculi haploizi fertili. Față de regina diploidă (2n), la care meioza este normală, la masculii haploizi (n) meioza este anormală, fără reducerea cromatică. Astfel, în prima diviziune a meiozei (diviziunea heterotipică) toți cromozomii, în număr haploid, migrează spre un singur pol, rezultând o singură celulă haploidă (**de restituție**), iar în diviziunea următoare (diviziunea homeotipică) rezultă doar o diadă spermatidică şi, ulterior gameți funcționali (fertili).

4. DETERMINISMUL GENIC AL SEXULUI

a) Factori sexuali complementari. La insectele din ordinul *Hymenoptera* se cunosc cel puțin două specii la care determinarea sexului mascul este sub controlul unui singur locus (o alelă haploidă sau în stare diploidă homozigotă). La viespea parazită *Bracon hebetor*, denumită frecvent *Habrobracon juglandis*, se cunosc cel puțin 9 alele la "locusul sexului", care se notează cu s^a, s^b, s^c,……, s^i). Toți masculii sunt fie diploizi homozigoți, indiferent pentru care dintre alele (s^as^a, s^bs^b, s^is^i), fie haploizi pentru una din alelele acestui locus (s^a, s^b, s^c,….., s^i). Femelele sunt obligatoriu heterozigote (s^as^b, s^bs^c, s^bs^I etc.). Acest tip de determinism genic se prezintă astfel:

P:	**s^as^b**				**s^a**		
	Femelă diploidă				**mascul haploid**		
G:	**s^a**	**s^b**	**x**		**s^a**		
F_1:	**s^a**	**s^as^a**		**s^as^b**		**s^b**	
	mascul	**mascul**		**femelă**		**mascul**	
	haploid	**diploid**		**diploidă**		**haploid**	

Printre descendenții diploizi există un mascul la o femelă (s^as^a, s^as^b); printre descendenții haploizi există doi masculi (s^a, s^b).

b) gene transformatoare de sex. La *Drosophila* o genă recesivă (tra) de pe cromozomul 3, în stare homozigotă transformă o femelă diploidă într-un mascul steril.

Femelele $X_{tra}X_{tra}$ seamănă morfologic cu masculii normali, cu excepția faptului că au testicule reduse. Această genă este fără efect la masculii normali, adică $X_{tra}Y$.

c) Determinismul monogenic la microorganisme. La unele microorganisme (*Chlamidomonas, Neurospora, etc)* tipul sexual este sub controlul unui cuplu de alele. Indivizii haploizi care posedă aceeaşi alelă nu fuzionează pentru a forma un zigot; indivizii cu alele diferite ale aceluiaşi locus sexual fuzionează şi produc zigoți.

5. REGLAJUL GENETIC AL DIFERENȚIERII SEXELOR LA PLANTE

Studiul sexualității la plante are importanță pentru cunoaşterea mecanismelor diferențierii organelor de reproducere al florilor, a raportului dintre sexe şi a determinismului genetic al componentelor de producție (număr de flori pe plantă, număr de fructe pe plantă, greutatea medie a fructelor etc.). De asemenea, cunoaşterea determinismului genetic al sexelor permite modificarea raportului între sexe în favoarea unor obiective economice, inhibarea funcționării unuia dintre sexe (de exemplu, androsterilitatea) cu impotanță în producerea de semințe hibride, transformarea genetică a plantelor monoice în dioice, etc.

La gimnosperme, majoritatea speciilor sunt dioice, în timp ce la angiosperme dimorfismul sexual (dioicitatea) este un fenomen rar (circa 0,5-0,7 %), cuprinzând un număr relativ mic de specii, dintre care menționăm: *Cannabis sativa, Humulus lupulus, Bryonia dioica, Melandrium album, Urtica dioica, Fragaria elatior, etc.,* precum şi speciile de *Populus, Salix, Rumex, ş.a.* Marea majoritate a angiospermelor sunt însă hermafrodite (90-93 %) şi unisexuat monoice (5-7 %).

După modul de fecundare, cele mai multe specii de plante sunt alogame şi previn autopolenizarea prin diferite mecanisme morfo-fiziologice şi genetice. Numărul speciilor autogame sau preponderent autogame este mic.

Față de cele menționate mai sus, se poate conchide că în determinismul sexului la plante sunt implicate mai multe mecanisme genetice.

6. DETERMINISMUL SEXULUI LA PLANTELE DIOICE

Determinarea genetică a sexelor la plante s-a făcut cu precădere la speciile unisexuat dioice. Pe baza cercetărilor la unele specii de plante dioice s-a constatat că sexele au un determinism genetic

cromozomial, asemănător cu tipul *Drosophila* sau tipul *Abraxas*, uneori fiind implicați heterocromozomi multipli. Principalele tipuri de determinism cromozomial al sexelor sunt (După T. Crăciun şi colab., 1978);

- sexul femel XX şi sexul mascul XY. Acest mecanism se întâlneşte la *Canabis sativa, Melandrium album, Brionia dioica, Urtica dioica,* ca şi celelalte specii sau varietăți de *Humulus, Populus, Salix, Vitis, Rumex* etc. Acest mecanism este prezent Î la speciile poliploide. Astefel, la specia tetraploidă de *Rumex tenuifolius* (2n = 4x = 28) sexul femel are structura (XX) XX, iar cel mascul (XX) XY. La specia hexaploidă de *R. acetosella* (2n = 6x = 42) sexul femel are structura (XXXX) XX şi sexul mascul (XXXX) XY. La speciile subdioice, la care sexul mascul heterogametic produce şi flori subandroice (*Vitis vinifera, asparagus officinalis*) pot apărea plante mascule cu structura YY viabile. Asemenea indivizi masculi apar prin autopolenizarea plantelor subandroice (XY) care segregă în raportul 1XX : 2XY : 1XY. La alte specii dioice subandroice nu apar prin autopolenizare masculi YY, fie datorită unei mutații letale recesive, fie a deleției locusului viabilității din cromozomul Y;

- sexul femel XX şi sexul mascul XO. Acest tip de determinism se întâlneşte la genul *Dioscorea.*

- sexul femel XX şi sexul mascul XY_1Y_2. În acest caz, sexul mascul are 2n + 1 cromozomi şi este prezent la *Rumex acetosa, R. hastatulus* şi *Humulus japonicus.* Planta masculă produce în meioză tot două tipuri de gameți, şi anume: X şi Y_1Y_2 (aceştia rămân legați).

- sexul femel $X_1X_1X_2X_2$ şi sexul mascul X_1Y_1 X_2 X_2Y_2. Se întâlneşte la *Humulus lupulus* var. *cordifolius* (2n = 16 A + 4 X – femela şi 2n = 16 A + 2X + 2Y – masculul).

- sexul mascul XX şi sexul femel XY. Este similar cu tipul *Abraxas* şi se găseşte la unele forme din genul *Fragaria.*

7. DETERMINISMUL SEXELOR LA PLANTELE HERMAFRODITE ŞI MONOICE

La aceste tipuri de plante, sexul este determinat de gene majore (determinism genic). Ambele sexe sunt homogametice, iar în gameții lor se găsesc gene care favorizează feminitatea (**F**) şi masculinitatea (**M** sau **m**). Pe lângă genele sexului, pot exista şi alte gene care pot suprima (inhiba) apariția unui sex sau altul. Astfel, prin recombinarea genelor normale cu cele mutante (supresoare) implicate în fromarea organelor florale la porumb (plantă moniocă) **C.A. Emerson** (1932) şi **D.F. Jones** (1944) citați de T. Crăciun şi colab., 1978, au obținut plante dioice de porumb. Ei au descoperit că în controlul genetic al sexelor la porumb sunt implicați trei loci, şi anume:

- locusul I: T_S - determină panicul normal, cu flori mascule.
  t_st_s - inhibă formarea florilor mascule şi determină apariția florilor female în panicule.
- locusul II: S_K - dezvoltarea normală a pistilului (carpelei).
  s_ks_k - inihibă formarea pistilului.
-locusul III: Ba - dezvoltarea normală a ştiuletelui (inflorescenței femele).
  b_ab_a - inhibă formarea ştiuletelui.

Prin combinarea în diferite moduri a genelor sexului, la porumb se pot obține următoarele genotipuri şi fenotipuri, care pot transforma porumbul în plantă dioică:

$T_S\ t_s\ s_k s_k$	- mascul	$T_S\ t_s\ b_a b_a$	- mascul
$t_s t_s\ s_k s_k$	- femelă	$t_s t_s\ b_a b_a$	- femelă

La castraveți, sexul este controlat, în general, de doi loci: St-st şi M-m, ale căror combinare în diferite moduri dau naştere la următoarele genotipuri şi fenotipuri ale sexului:

StStMM - plantă monoică (masculi + femele)
ststMM - plantă femelă
StStmm - plantă andromonoică (masculi + femele)
Ststmm - plantă cu flori hermafrodite

Obținerea de linii consangvinizate ginoice cu capacitate de combinare ridicată (reacție puternică în F_1 o vigoare hibridă puternică şi producții mari de castraveți pe plantele ginoice (mamă), care evident au numai flori femele, producătoare de fructe.

7.1. HORMONII VEGETALI ŞI EXPRESIA SEXULUI

Expresia sexului este afectată de către hormonii vegetali la multe specii monoice şi dioice. În plus, factorii de mediu, precum temperatura, fotoperioada pot induce reversia sexului, posibil datorită schimburilor la nivelul hormonal. De asemenea, au fost observate diferențe privind nivelul hormonilor endogeni între cele două sexe.

Efectul specific al hormonilor asupra sexului variază în funcție de specie. De exemplu, aplicarea giberelinei la florile femele de castravete conduce la masculinizarea acestora, iar aplicarea sa pe florile mascule coduce la feminizarea lor. Exemplele de reversie sexuală induse de aplicarea hormonilor vegetali sugerează că la multe specii cu flori unisexuate, meristemele acestora sunt sexual bipotente, iar genele implicate în determinarea sexului pot determina reversia sexuală ca urmare a schimbării nivelurilor sau raporturilor hormonilor endogeni.

Porumbul reprezintă prima plantă la care au fost izolate gene ce determină sexul. Aceste gene au fost analizate din punct de vedere genetic, biochimic şi molecular, iar rezultatele acestor analize au condus la concluzia că hormonii vegetali joacă un rol foarte important în procesul determinării sexuale. De exemplu, mutațiile genelor D (dwarf = piticire) şi An1 (Anther ear 1 = ştiulete masculinizat 1) afectează dezvoltarea sexuală a florilor din ştiulete. Dezvoltarea pistilului este normală, dar cea a staminelor este derepresată, fapt ce conduce la obținerea unei plante cu paniculul hermafrodit, iar ştiuletele masculinizat. Mutațiile acestor gene produc şi o întârziere a înfloririi, o modificare a staturii plantelor, cauzând fenotipul de piticire. Studiile biochimice şi genetice au evidențiat faptul că plantele mutante pentru gena D sunt deficiente în giberelină, iar aplicarea exogenă a acestui hormon conduce la revenirea plantelor la fenotipul normal.

8. FACTORI CARE INFLUENȚEAZĂ DETERMINISMUL GENETIC AL SEXELOR

La numeroase specii de plante şi animale, inclusiv la om, o serie de factori de mediu, administrarea de hormoni, anomalii în structura şi numărul cromozomilor sexuali afectează determinismul genetic al sexelor, în special în ceea ce priveşte raportul între sexe şi modul de reproducere.

Factorii de mediu. Dintre factorii de mediu, un rol important în determinismul sexelor îl au condițiile de nutriție, lumina, temperatura, umiditatea etc. (P. Raicu, 1991).

În ceea ce priveşte *condițiile de nutriție* s-a constatat că dacă larvele de *Bonellia virilis* (virme) sunt crescute separat devin femele, iar dacă sunt crescute împreună într-un vas cu femele adulte, ele

pătrund în trompa acestora unde trăiesc parazit şi devin masculi de dimensiuni foarte mici, comparaticv cu femelele. Dacă după un timp se scot din trompa femelei şi sunt crescuţi izolat, devin indivizi hermafroditi. De asemenea, masculii au fost transformaţi în femele prin adăugarea în apa marină,în care trăiesc, a unor cantităţi foarte mici de HCl sau $CuSO_4$.

La unele specii de animale, *variaţia temperaturii* poate modifica determinismul genetic al sexelor. Astfel, că şi stolonii şi hidranţii, care repezintă tipul vegetativ de înmulţire, meduzele – tipul sexual de înmulţire, sunt influenţate puternic de temperatura mediului. La temperaturi ceva mai ridicate ele produc numai ovule şi sunt de sex femel, la temperaturi ceva mai scăzute (mijlocii) devin hermafrodite (produc atât ovule cât şi spermatozoizi), iar la temperaturi relativ scăzute devin mascule (produc numai spermatozoizi).

Un exemplu de influenţă a *luminii* asupra schimbării sexului, chiar de mai multe ori pe an, îl reprezintă palmierul brazilian *Attalea humifera*. În anumite condiţii, de densitate mare cu arbori mai înalţi care umbresc, plantele devin de sex masculin, iar în cazul când plantele sunt izolate sau au aceeaşi înălţime cu arborii din jur, capătă sexul femel. La umbrire, plantele redevin mascule.

În condiţii modificate de mediu, în care sunt implicaţi mai mulţi factori (temperatura, lumina, umiditatea etc.) la unele specii de plante apar modificări însemnate privind diferenţierea inflorescenţelor şi raportul dintre sexe. De exemplu, la porumb, în condiţii de temperaturi mai reduse, umiditate mare şi luminozitate scăzută se constată apariţia de flori femele în inflorescenţa masculă, formarea de flori mascule în inflorescenţa femelă, tendinţa de ramificare a ştiuletelui, sterilitatea florilor mascule etc., crescând considerabil proporţia florilor femele. Aceste modificări sunt mult mai profunde la formele de porumb originar din zonele subtropicale, care sunt bine adaptate la zile scurte şi temperaturi ridicate. La castraveţi, în condiţii de zi scurtă şi temperaturi mai reduse (primăvara) apare tendinţa plantelor de feminizare şi invers, în condiţii de zi lungă şi temperaturi ridicate (vara) se manifestă tendinţa de masculinizare. De asemenea, la cânepă, în condiţii de zi scurtă creşte proporţia de plante femele până la 80-90% faţă de 50% în condiţii normale.

Hormonii sexului. La vertebrate, inclusiv om, detreminismul sexelor are două etape distincte: i) *etapa genetică*, care la om începe cu zigotul până la formarea gonadelor (ovare şi testicule) şi durează până la a 60-a zi de la fecundare. În această etapă sexul este determinat în exclusivitate de cromozomii sexului: ii) *etapa hormonală*, în care procesul de sexualizare masculină continuă sub influenţa hormonilor androgeni (testosteronul), iar sexualizarea feminină evoluează "pasiv" sub determinism genetic, până la formarea ovarelor (gonadelor femele). Diferenţierea definitivă a sexelor se realizează în preajma pubertţii, când producerea de hormoni femeli (foliculina şi progesteronul) şi masculi (testosteronul), capătă importanţă deosebită în procesul de sexualizare.

Importanţa hormonilor sexuali a fost relevată la animale vertebrate prin administrarea de hormoni de la un sex la altul, în diferite stadii ale vieţii, care au produs modificări în expresia fenotipică a sexului (T. Crăciun şi colab., 1978).

Anomalii în structura şi numărul cromozomilor sexuali. O serie de modificări în structura şi numărul cromozomilor sexuali, cum ar fi deleţiile, duplicaţiile, inversiile şi translocaţiile, care apar la sexul homogametic (XX), non-disjuncţia cromozomilor sexului în meioză etc., pot determina apariţia unor genotipuri anormale ce alterează expresia fenotipică a sexului. Dintre anomaliile mai frecvente în ereditatea sexului menţionăm:

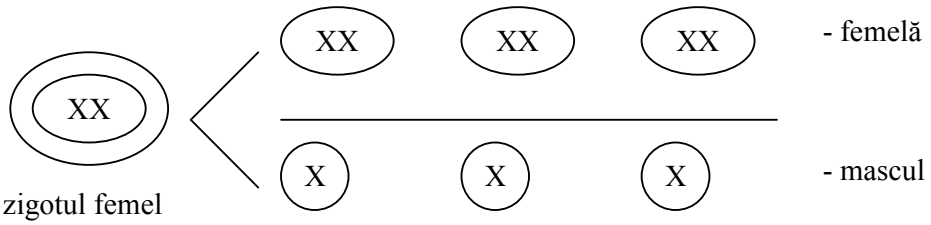
- ginandromorfismul. La unele specii dioice (insecte, animale, om etc.) s-a observat apariţia unor organisme la care unele părţi ale corpului sunt de tip femel, iar altele de tip mascul. După extinderea ţesuturilor femele şi, respectiv mascule, pe acelaşi individ, ginandromorfismul poate fi bilateral, când anomaliile au apărut în diviziunile ulterioare (T. Crâciun şi colab., 1978).

Cercetările întreprinse la *Drosophila*, începând cu anul 1919 de către **A. sturtevant, T. Morgan** şi **C. Bridges** au dus la concluzia că acest fenomen apare cu o frecvenţă de 1 : 2000 sau 1 : 3000 musculiţe normale, precizând şi principalele cauze care guvernează această anomalie.

O primă cauză a ginandromorfismului bilateral (transversal sau longitudinal), la care jumătate din organism este tipic femelă şi cealaltă jumătate este tipic masculă, o reprezintă pierdera unuia dintre

cromozomii X la sexul femel (XX) în una din celulele fiice ale zigotului la prima sa diviziune mitotică. În felul acesta, o celulă fiică va avea structura normală XX şi prin diviziuni mitotice repetate va da neştere la celule şi ţesuturi de tip femel, iar cealaltă celulă fiică (care a pierdut un cromozom X sau a migrat la timp din placa ecutorială către polul celulei fiice) va avea structura XO şi, prin diciziuni succesive, va da naştere la ţesuturi de tip mascul (vezi figura 5.1.).

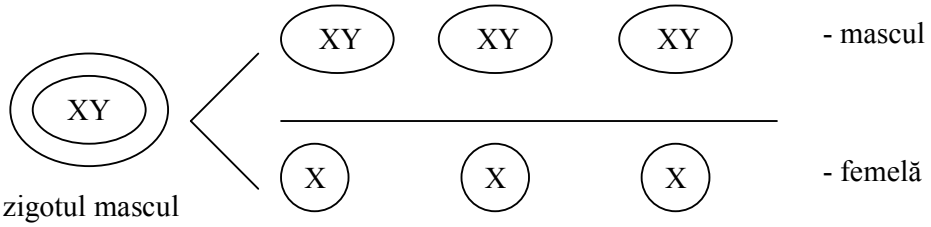
Fig. 5. 1
Apariţia ginandromorfismului bilateral la *Drosophila* datorită pierderii unui cromozom X la prima diviziune a zigotului
]



În cazul situaţiei când pierdera cromozomului X are loc mai târziu (la o diviziune ulterioară), ţesutul sau porţiunea cu structura XO (mascul) va fi mai mică şi va fi integrată în corpul femelei adulte, fiind observată sub forma de *mozaicuri* cu caractere sexuale diferite genetic.

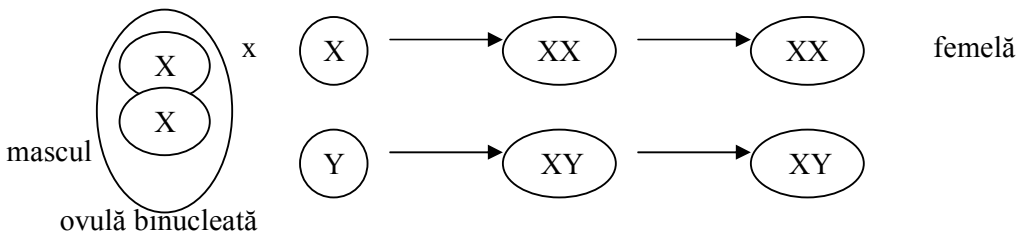
La alte mamifere şi la om, ginandromorfismul bilateral apare tot la prima diviziune a zigotului la un individ mascul (XY) prin pierderea cromozomului Y cu rol masculinizant (vezi figura 5. 2.):

Fig. 5.2.
Ginandromorfismul bilateral la om şi alte mamifere



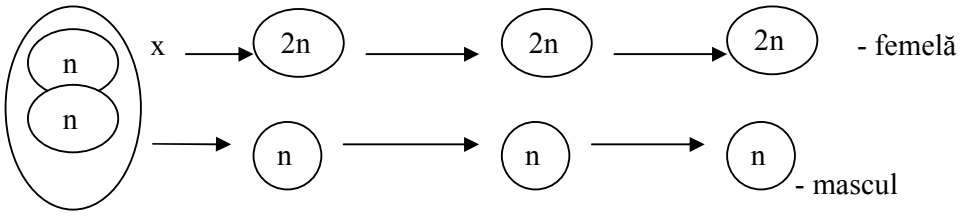
O a doua cauză care generează ginandromorfismul bilateral constă în apariţia de ovule binucleate datorită inhibării formării corpusculului polar în meioză. Astfel, la femelele de *Drosophila* s-au descoperit ovule cu câte doi nuceli, fiecare având un cromozom X. Prin fecundarea acestor ovule cu spermatozoizi diferiţi, unul X şi celălalt Y, va rezulta un oragnism cu o parte a sa cu structura XX (femel) şi cealaltă cu structutra XY (mascul), determinând apariţia unui ginandromorfism bilateral (vezi figura 5. 3.).

Fig.5. 3.
Apariţia ginandromorfismului bilateral prin fecundarea unei ovule binucleate



A treia cauză care determină apariţia de organisme ginandromorfe, caracteristică insectelor din *Hymenoptere*, cu determinism sexual haplo-diploid, constă tot în apariţia de ovule binucleate, fiecare nucleu având n cromozomi. Prin fecundarea numai a unuia dintre nucleii acestor ovule cu n cromozomi, cu un spermatozoid haploid (n) va rezulta jumătate din corp diploid (2n) de tip femel şi cealaltă jumătate din corp (rezultată din nucelul nefecundat) haploidă (n), de tip mascul (vezi figura 5. 4.).

Fig. 5. 4
Apariţia ginandromorfismul bilateral la *Hymenoptera*



ovulă binucleată.

Non-disjuncţia heterocromozomilor. Cercetările efectuate la om cu diferite afecţiuni de comportament, deficienţă mintală, tulburări endocrine, steriliate, nanism, surzenie, etc., au evidenţiat faptul că In majoritatea cazurilor, acestea sunt asociate cu anomalii în numărul cromozomilor. Sunt cunoscute o serie de maladii grave cu denumiri diferite, dintre care le prezentăm pe cele mai frecvente (P. Raicu, 1990, 1997):

- *sindromul Klinefelter* întâlnit la bărbaţii cu structurile cromozomiale XXY, XXXY, XXYY sau XXXYY, care constă în deficienţă mintală, tulburări endocrine, sterilitate, surzenie, etc.);

- *sindromul de "agresivitate"* descoperit recent şi, care după unele constatări apare cu o frecvenţă de circa 1% în anumite populaţii. Se întâlneşte la bărbaţii cu formula cromozomială XYY. În aparenţă, aceşti bărbaţi sunt normali, dar în anumite circumstanţe de stres devin agresivi şi constituie adesea, un pericol social;

-*sindromul Turner* se întâlneşte la femeile cu cariotip heterozomal XO (se apreciază că deficienţa în cromozomul X apare în ovul). Aceste femei se caracterizează prin nanism, sterilitate, surzenie, demenţă etc.

Fenotipuri femele anormale apar şi la structurile cromozomiale de tipul XXX sau XXXX.

Non-disjuncţia cromozomilor sexului la începutul embriogenezei poate determina, aşa cum s-a precizat mai înainte, mozaicuri genetice de ţesuturi cu diverse caractere sexuale primare şi secumdare.

9. SEX - INFLUENŢARE

Genele influenţate de sex pot fi situate pe orice autozom sau pe porţiunile homoloage ale cromozomilor sexului. Alelele acestor loci influenţaţi de sex se exprimă în mod diferit la masculi şi femele: aceiaşi alelă va fi dominantă la mascul şi recesivă la femelă sau invers. Aceasta se datorează în mare parte, mediului intern care este determinat de hormoni sexuali.

Caracterele influenţate de sex se găsesc cel mai frecvent la animalele superioare, care posedă un sistem endocrin dezvoltat.

Exemplu:

Gena responsabilă de formarea cheliei este dominată la bărbaţi şi recesivă la femei (S. William, 1977).

Genotipuri	Fenotipuri	
	Bărbaţi	Femei
b'b'	cu chelie	cu chelie
b'b	cu chelie	normal
bb	normal	normal

10. SEX - LIMITARE

Anumite gene se exprimă numai la unul din cele două sexe. De exemplu, taurii (la bovine) posedă numeroase gene ce controlează producţia de lapte, ei pot să le transmită la fiicele lor, însă nici ei şi nici fii lor nu pot exprima acest caracter. Producţia de lapte este deci un caracter cu expresie variabilă, limitat numai la femele. Când penetranţa unei gene la un sex este egală cu zero, acest caracter va fi limitat la celălalt sex.

Un exemplu se referă la "penajul de cocoş" (la păsări) care nu se exprimă decât la masculi.

11. EREDITATEA CARCTERELOR LEGATE DE SEX (SEX-LINKAGE)

11. 1. EREDITATEA CARACTERELOR LEGATE DE SEX LA TIPUL *DROSOPHILA*

O genă localizată pe cromozomul X şi foarte rar pe Y se numeşte legată de sex. Prima genă legată de sex a fost observată la *Drosophila*; este vorba de gena recesivă (w) care determină culoarea albă a ochilor, în timp ce gena dominantă (W) determină culoarea roşie (tipul sălbatic). Masculii nu posedă decât o singură alelă legată de sex, iar această stare se numeşte **hemizigoţie**.

Diferite încrucişări între masculi şi femele cu alele pentru culoarea ochilor se prezintă astfel:

		Roşii		Albi	
	P:	X_WX_W ♀		X_wY♂	
	G:	X_W	x	X_w	Y
	F_1:	X_WX_w ♀		X_WY♂	
		Roşii		Roşii	
F_2:	P:	X_WX_w ♀		X_wY♂	
	G:	X_W X_w	x	X_W	Y
	F_1:	X_WX_W ♀	X_WY♂	X_WX_w♀	X_wY ♂
		Roşii	Roşii	Roşii	Albi

În F_2 toate femelele au ochii roşii, iar jumătate din masculi au ochii roşii şi jumătate au ochii albi. Raportul fenotipic global între indivizii F_2 (indiferent de sex) este de 3 roşii : 1 alb.

La încrucişarea inversă (femele cu ochi albi x masculi cu ochi roşii), rezultă:

	albi		roşii	
P:	X_wX_w ♀		X_WY♂	
G:	X_w	x	X_W	Y
F_1:	X_WX_w ♀		X_wY♂	
	roşii		albi	
	1	:	1	

În acest caz asistăm în F_1 la o transmitere în cruce (cris – cros) a culorii ochilor; masculii moştenesc culoarea albă de la mamă, iar femelele moştenesc culoarea roşie de la tată.

În F_2 rezultă:

	roşii		albi
P:	X_wX_w ♀		X_WY♂
G:	X_w	x	X_w Y

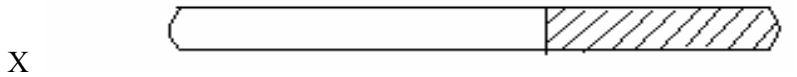
F_2:	X_WX_w ♀	X_WY♂	X_wX_w ♀	X_wY ♂
	roşii	roşii	albi	albi

În F_2 jumătate din femele şi masculi au ochii roşii şi jumătate au ochii albi. Raportul global de segregare este de 1 roşu : 1 alb.

Analizele hibridologice la *Drosophila melanogaster* au arătat că numeroase alte carctere sunt determinate de gene X sex – linkage şi se transmit similar la descendenţi ca şi culoarea ochilor (ex. Mutantele: aripi tăiate, ochi lozenge, corp galben şi multe altele).

Pe lângă acest tip general de ereditate a caracterelor legate de sex, există şi unele tipuri particulare, determinate de existenţa unor gene pe cromozomul Y care nu au gene (alele) homoloage pe cromozomul X. Astfel, la om se cunosc câteva gene situate pe porţiunea neomoloagă a cromozomului Y denumite **gene holandrice**. Dintre genele holandrice studiate până în prezent menţionăm gena care produce "bărbaţi cu părul aspru şi ţepos", gena pentru "urechi păroase", gena pentru "degete de la picior sudate prin membrană" şi alte gene mai puţin studiate. În acest caz carcterele respective se exprimă numai la masculi şi se transmit din tată în fiu. Aceste gene care sunt total înlănţuite pe cromozomul Y sunt denumite gene Y-complet sex-likage (T. Crăciun şi colab., 1978).

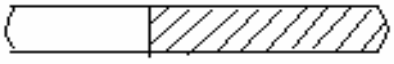
Schema cromozomilor x şi Y de la om cu segmentele homoloage şi neomoloage ale acestora



X

Fracţiunea neomoloagă cromozomului X (gene X sex-linkage complet)

Fracţiunea omoloagă între X şi Y (gene X sex-linkage incomplet)



Y

Fracţiunea neomoloagă a cromozomului Y cu gene holandrice (gene Y sex-linkage complet)

11. 2. EREDITATEA CARACTERELOR LEGATE DE SEX LA TIPUL ABRAXAS

Ereditatea sexului de tip *Abraxas* a fost observată şi valorificată înaintea eredității de tip *Drosophila*, caracterizată printr-un mecanism total opus determinării genetice a sexelor la *Drosophila* şi anume: femelele sunt heterogametice (XY sau ZW) şi masculii homogametici (XX sau ZZ).

Acest tip de ereditate (prezent la păsări, fluturi, peşti), la care transmiterea carcterelor în cruce (cris-cros) este similară cu ereditatea sexului la tipul *Drosophila* pentru sexul homogametic (XX) cu gene recesive homozigote, poate fi utilizată în practică cel puțin la păsări şi viermii de mătase, pentru detectarea şi izolarea timpurie a sexelor, folosind unele gene marker translocate pe cromozomii sexului. Ca gene marker translocate de pe autozomi pe cromozomii sexului şi care se folosesc în procesul de *autosexare* se utilizează gena pentru culoarea pufului (alela B produce puf galben, iar alela recesivă b determină puf negru), gena care determină culoarea penelor (alela S produce penaj auriu şi alela s produce penaj argintiu) şi gene care controlează viteza de creştere a penajului (K determină creşterea rapidă, normală şi k creştere lentă).

De exemplu, la încrucişarea unui cocoş din rasa Langshan cu penaj negru (X_bX_b) cu o găină din rasa Plymouth Rock cu penaj vărgat (X_BY), în F_1 se manifestă ereditatea cris-cros, femelele având penaj negru, iar masculii penaj vărgat, ceea ce permite izolarea cu uşurință a sexelor imediat după ecloziune (autosexare). Schematic această hibridare de autosexare se prezintă astfel:

	negru		vărgat	
P:	X_bX_b ♂		X_BY♀	
G:	X_b	x	X_B	Y
F_1:	$X_b X_B$ ♂		X_bY♀	
	vărgați		negri	

Separarea timpurie a sexelor la găini, permite aplicarea unui regim de alimentație diferențiat în funcție de destinația de consum. Astfel, masculii sunt recombinați pentru broiler (creştere intensivă), iar femelele pentru producția de ouă.

La încrucişarea reciprocă (inversă) cu cocoşi vărgați (X_BX_B) şi femele negre (X_bY), în F_1 toți indivizii sunt vărgați, iar în F_2 segregă în raportul global de 3 vărgați : 1 negru (50% din femele sunt negre şi 50% vărgate, iar masculii sunt toți vărgați).

Rezumat: Consideratii generale; Determinismul cromozomial al sexului; Deteminismul genomial al sexului; Determinismul genic al sexului; Reglajul genetic al diferentierii sexelor la plante; Determinismul sexului la plantele dioice; Determinismul sexelor la plantele hermafrodite si monoice; Hormonii vegetali si expresia sexului; Factorii care influenteaza determinismul genetic al sexelor; Sex – influentare; Sex – limitare; Ereditatea carcterelor legate de sex (sex – linkage); .Ereditatea caracterelor legate de sex la tipul *DROSOPHILA;* Ereditatea caracterelor legate de sex la tipul ABRAXAS

Test autocontrol:

25.	Determinismul cromozomial al sexelor cuprinde:	a) tipul Drosophila si Abraxas
		b) tipul Drosophila si Protenor
		c) tipul Abraxas si Fluture
26.	Plantele prezinta un control genetic al sexelor:	a) cromozomial si genic
		b) genic
		c) cromozomial
27.		a) doua alele dominante

	Fenomenul de cris-cross se intalneste cand sexul homogametic prezinta:	b) doua alele recesive
		c) o alela dominanta si una recesiva
28.	In cazul castravetilor, factorii de mediu pot schimba raportul dintre sexe?	a) nu, sexul este sub control genetic
		b) da

CAPITOLUL VI

RESTRUCTURĂRI CROMOZOMIALE

Speciile de plante şi animale au cromozomi cu o organizare, volum, lungime şi formă bine definite. Aceste caracteristici sunt în general constante şi se pastrează de la o generaţie la alta, datorită capacităţii cromozomilor de a se duplica identic la fiecare diviziune celulară. Pe fiecare cromozom există, în mod normal, câte un centromer, care ocupă o poziţie fixă. De-a lungul cromozomilor se găsesc, în ordine liniară, genele, al căror număr este caracteristic pentru fiecare cromozom şi sunt aranjate într-o ordine serială precisă.

Ocazional, sub influenţa unor factori naturali sau artificiali (fizici sau chimici), structura cromozomilor poate să se schimbe. Tipurile de modificări care afectează structura cromozomilor au fost denumite dislocaţii (aberaţii cromozomiale sau anomalii cromozomiale). La baza acestor schimbări structurale stă însuşirea cromozomilor de a se fragmenta (rupe) transversal sub acţiunea anumitor agenţi fizici sau chimici şi capacitatea fragmentelor cromozomale de a se reuni prin capetele lor (în punctele de ruptură) sau de a se alipi la alţi cromozomi care au suferit fragmentări în lungimea lor. În felul acesta, pot avea loc rearanjări ale materialului cromozomal care, in esenţă determină modificări structurale în număr limitat. Fiecare cromozom poate fi afectat de una sau mai multe rupturi, iar fragmentele rezultate se pot reuni dând aranjamente noi, care generează formarea de cromozomi noi sau grupe linkage diferite şi, în consecinţă, cariotipuri modificate.

În cadrul unui anumit cromozom, schimbările pot avea loc în acelaşi braţ sau între cele două braţe. Segmentele rezultate din fragmentarea cromozomului pot fi mici, afectând numai extremităţile cromozomului sau pot fi mari, posedând şi centromer. La unirea segmentelor se poate păstra succesiunea liniară a genelor sau pot apare succesiuni noi care, adesea, sunt însoţite de "efecte de poziţie".

La nivelul cromozomilor omologi sau al cromatidelor acestora pot apare, de asemenea, schimbări structurale rezultate din unirea fragmentelor apărute sub influenţa diferiţilor factori dislocanţi (mutageni).

La nivelul cromozomilor neomologi, schimburile de material genetic, ca urmare a unirii segmentelor dislocate din doi sau mai mulţi cromozomi neomologi, pot determina modificări în structura şi numărul genelor sau în succesiunea lor.

Inducerea modificărilor structurale ale cromozomilor se realizează spontan, cu o frecvenţă relativ mică, diferită de la o specie la alta, determinate de cauze încă puţin cunoscute şi artificial, cu o frecvenţă mult mai mare, prin folosirea unor agenţi fizici sau chimici cu rol dislocant.

1. TIPURI DE RESTRUCTURĂRI ŞI EXAMINAREA LOR

Cercetarea modificărilor structurale şi morfologice la cromozomii afectaţi de dislocaţii a relevat faptul că acestea se pot grupa în principal, în două categorii distincte, şi anume:

I. Schimbări în numărul de gene

II.- Schimbări în succesiunea (aranjarea) genelor.

1. 1. SCHIMBĂRI ÎN NUMĂRUL DE GENE

1. **Deleţia** sau **deficienţa,** care constă în pierderea unui fragment de cromozom (cu una sau mai multe gene). Asemenea nuclei, celule sau indivizi sunt deficienţi pentru gena sau genele respective.

Deficienţa poate afecta unul sau mai mulţi cromozomi şi poate avea loc în orice porţiune a cromozomului. Când se pierde un segment terminal, deleţia se numeşte **terminală,** iar când se pierde un segment central, deleţia se numeşte **intercalară** sau **interstiţială**. Fragmentele pierdute care sunt lipsite de centromer (acentrice) şi nu se ataşează la alţi cromozomi, care au suferit şi ei rupturi, nu sunt viabile. Ele se resorb în masa citoplasmei.

Efectul deleţiilor asupra vigorii şi feritilităţii organismului este diferit, în funcţie de natura organismului şi de mărimea fragmentului pierdut. Pierderea unor fragmente mari este, de cele mai multe ori, letală pentru organism sau pentru gameţii în care se produc.

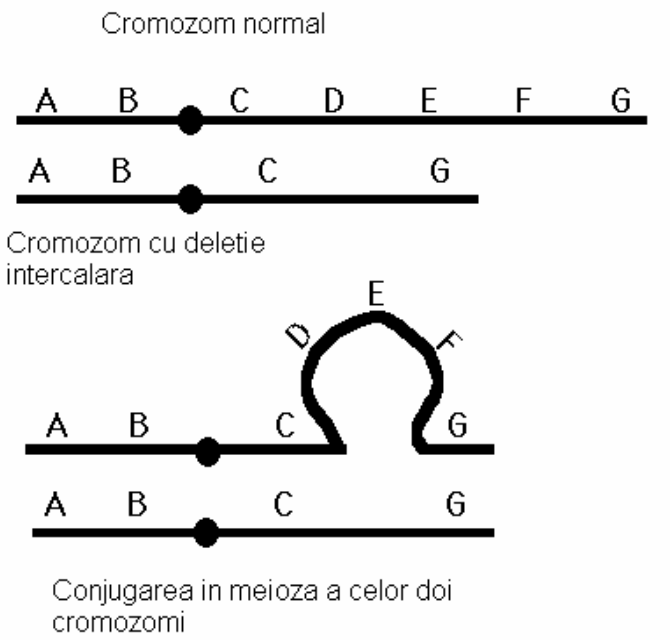
Deleţiile sau deficienţele pot fi **homozigote** (când ambii gameţi prezintă aceeaşi deficienţă) sau **heterozigote** (când numai un gamet prezintă deficienţă).

Identificarea deficienţelor se poate face prin metode citologice şi genetice. Din punct de vedere citologic, nu se pot detecta deleţiile în stare homozigote, ci numai în stare heterozigotă.

Deleţiile terminale se pot observa la microscop prin faptul că datorită deficienţei cromozomul este mai scurt (vezi fig.6.1.). În cazul deficienţelor intercalare, la împerecherea cromozomului deficient cu omologul sau normal, acesta din urmă formeaza o buclă în porţiunea segmentului în plus, care permite detectarea deficienţei . Cu cât deficienţele sunt mai mari, cu atât ele pot fi mai uşor evidenţiate citologic. Cromozomii deficienţi la ambele capete formează cel mai adesea cromozomi inelari şi fragmente acentrice. La organismele heterozigote, cu deficienţă în cromzomul ce posedă alelele dominante se vor manifesta alelele recesive din cromzomul pereche, alele corespunzatoare celor din fragmentul pierdut. Aceasta dă naştere la fenomenul de pseudodominanţă. De asemenea, unele deleţii pot fi identificate şi prin modificarea raportului de segregare.

Fig. 6. 1.Deleţie terminală

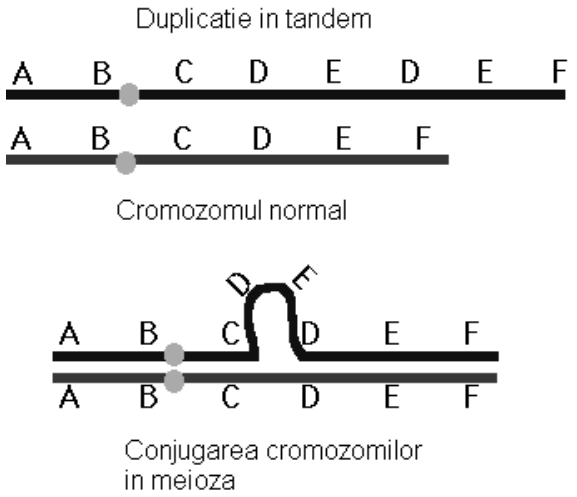
Fig. 6. 2. Deleţie intercalară şi conjugarea cromozomilor



2. Duplicaţia constă în caştigarea unui fragment de la un cromzom omolog. În urma duplicaţiei organismul respectiv posedă una sau mai multe alele în duplicat, în acelaşi cromozom. într-o celulă diploidă o anumită genă sau mai multe gene sunt reprezentate de două ori.

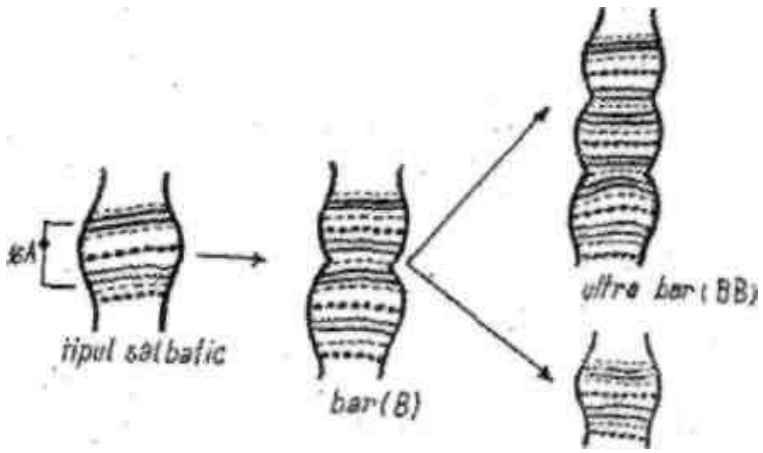
Apariţia duplicaţiei presupune ruperea simultană a doi cromozomi, deoarece segmentele cromozomale se pot uni numai cu alte segmente care prezintă cel puţin un punct de ruptură. Segmentele cromozomale nu se pot uni cu cromozomi întregi. După un anumit timp, fragmentele de cromozomi îşi pierd capacitatea de reunire. Segmentele de cromozomi pot fi inserate la un cromozom omolog, parţial omolog sau chiar la unui neomolog, în diferite poziţii. Când segmentul de cromozom transpus ocupă poziţia după segmentul identic (de exemplu GHGH), duplicaţia se numeşte în **tandem.** În alte cazuri, duplicaţia este dispusă în tandem invers (GHHG), nu este inserată după segmentul identic (GHIJGH) sau este dispusă în cromozomi neomologi (ABCDEFGHI - MNOPQRGHST).

Fig. 6.3. Conjugarea în meioză între un cromozom normal şi omologul său duplicat



Cel mai adesea, duplicaţia rezultă în urma fenomenului de crossing over inegal. Din acest caz, duplicaţia apare într-unul din cromozomii omologi, pe când în celălalt cromozom omolog va rezulta o deficienţă . Un exemplu foarte cunoscut de duplicaţie este la Drosophila melanogaster, la locusul "Bar" din cromozomul X (vezi fig.6.4.). La plante (porumb, orz, maăare, etc) se cunosc, de asemenea, mai mulţi loci duplicaţi, în diverşi cromozomi.

Fig. 6. 4.Duplicaţia segmentului cromozomal cu locusul"Bar"la *Drosophila*



Detectarea duplicațiilor se face atât prin studii citologice, cât şi prin observații asupra efectelor fenotipice la indivizii afectați. Studiile citologice pentru evidențierea unei duplicații se realizează mult mai uşor comparativ cu deficiența terminală. Duplicațiile heterozigote mai lungi formează bucle în profaza I a meiozei (stadiul de pachinem). Trebuie stabilit dacă aceste bucle sunt determinate de o deleție (unde face bucla cromozomul normal) sau de inversiune (unde participă ambii cromozomi la formarea buclei). Organismele care posedă duplicații pot determina un fenotip nou ce poate afecta uneori, un complex de caracteristici care se transmit la urmaşi.

Adesea, la realizarea fenotipului nou se adaugă influența genelor adiacente (efectului de poziție), cât şi schimbarea balanței genelor.

1. 2. SCHIMBĂRI ÎN SUCCESIUNEA GENELOR

1. Inversiunea constă în rotirea unui fragment distinct cu 180° în cadrul aceluiaşi cromozom. În acest caz, un segment de cromozom se detasează şi, apoi, se reaşează cu genele în ordinea inversată. Aceasta împiedică apariția crossing over-ului întrucât regiunile inversate şi cele neinversate din cromozomii omologi nu au loc sinapse. Acest supresor al crossing over-ului este simbolizat cu litera C.

Când inversiunea are loc în acelaşi braț al cromozomului, fără să includă centromerul, se numeste inversiune paracentrică (ABCDE.HGFI). Dacă inversiunea afectează segmente cromozomale în care este cuprins şi centromerul se numeşte inversiune pericentrică (ABGFE.DCHI). În acest caz, ruperile pot fi apropiate de centromer la distanțe simetrice sau asimetrice. Mecanismul apariției unei inversii este prezentat în figura de mai jos (fig. 6. 5.). Inversiunea poate fi heterozigotă când afectează numai unul dintre cromozomii omologi, sau homozigotă când afectează ambii cromozomi omologi.

Cromozomii afectați de inversiunea homozigotă au o comportare citologică normală.

Fig. 6. 5.Mecanismul apariției unei inversiuni

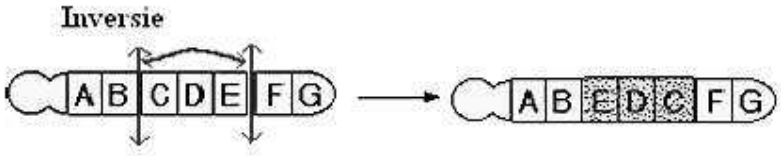
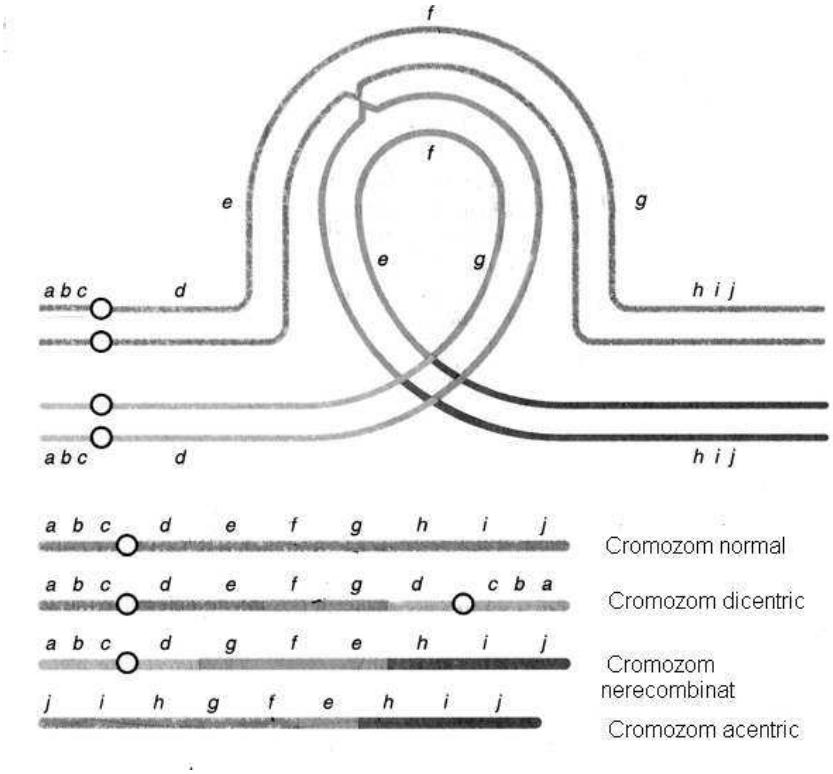


Fig. 6. 6. Conjugarea cromozomilor în cazul inversiei



În cazul inversiunii heterozigote paracentrice cromozomul afectat de inversiune face o buclă prin răsucire, în timp ce crozomul omolog normal, formează o "buclă" corespunzătoare cromozomului inversat, în aşa fel încât, alelele homoloage să ajungă în aceeaşi poziţie (fig. 6.6.). Dacă inversiunea afectează un segment destul de mare, este posibil să apară fenomenul de crossing over în bucla ce se formează. Ca urmare, poate rezulta în urma crossing over-ului un cromozom dicentric şi unul acentric .

În cursul anafazei I a diviziunii meiotice, cromozomul dicentric va forma o punte datorită tendinţei de migrare a celor doi centromeri către polii opuşi. Asemenea punţi de inversie au fost observate la numeroase plante şi animale.

Inversiunile au importanţă în formarea unor cariotipuri noi şi, deci, a unor forme noi, în localizarea unor gene, în menţinerea unor stocuri genetice (prin inhibarea crossing over-ului), în fixarea genetică a heterozisului, etc.

2. Transpoziţiile şi translocaţiile sunt schimbări intra- şi, respectiv, inter cromozomale.

Transpoziţia reprezintă transferul unui segment de cromozom dislocat, într-o altă poziţie, în acelaşi cromozom. Efectul fenotipic major este marcat de "efectul de poziţie".

Translocaţia reprezintă schimbul de segmente cromozomale între cromozomii neomologi. Segmentele de cromozomi translocate pot cuprinde o porţiune de cromozom sau chiar un braţ întreg. Schimbul de segmente cromozomale se realizează în urma ruperii cromozomilor. Alipirea segmentelor de cromozomi se face numai în punctele unde au avut loc ruperi.

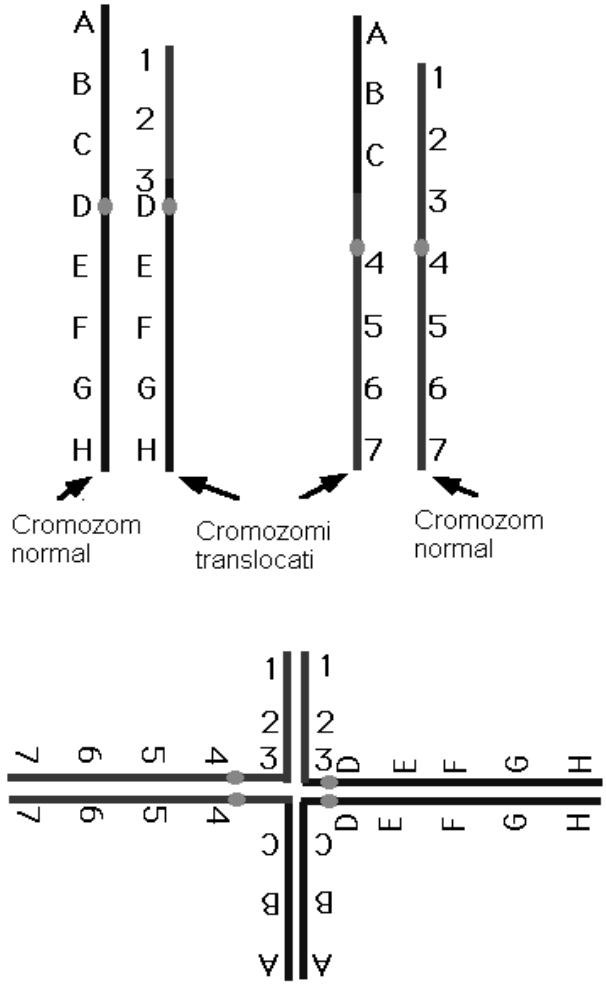
Studiile citologice au scos în evidenţă mai multe tipuri de translocaţii. Tipul cel mai frecvent îl reprezintă translocaţia reciprocă, care constă în schimbul de fragmente cromozomale între doi sau mai mulţi cromozomi neomologi. Când schimbul de fragmente se realizează între doi cromozomi neomologi se numeşte translocaţie simplă, iar între toţi cromozomii din nucleu, se numeşte

translocaţie complexă sau multiplă. Uneori, pot fi afectaţi succesiv, reciproc, trei sau mai mulţi cromozomi - în acest caz, translocaţia se numeşte succesivă.

Translocaţia poate fi heterozigotă sau homozigotă, după cum sunt afectaţi unul sau ambii cromozomi dintr-o pereche homoloagă, prezentând aceleaşi translocări de segmente cromozomale.

Prin încrucişarea unor indivizi normali cu indivizi afectaţi de translocaţie reciprocă se obţin hibrizi de translocaţie, care în pachinem formează diferite configuraţii specifice cromozomilor translocaţi. La imperecherea, de exemplu a doi cromozomi translocaţi cu cromozomii omologi normali, cei patru cromozomi vor forma o figură în formă de cruce, care permite asocierea porţiunilor homoloage pe întreaga lungime a cromozomilor. În diachineză translocaţiile heterozigote formează o configuraţie în formă de "8". Forma de inel apare în lipsa chiasmei dintre centromer şi punctul de translocaţie (regiunea interstiţială), iar forma de "8", după apariţia chiasmei în regiunea interstiţială .

Fig. 6. 7. Translocaţia heterozigotă şi conjugarea meiotică



În urma meiozei, heterozigoţii pentru translocaţie produc 50% gameţi fertili (cei care conţin toate genele) şi 50% gameţi sterili (cei în care lipsesc gene). Prin fecunadrea liberă a gameţilor fertili se obţin 25% indivizi homozigoţi normali, 50 heterozigoţi de traslocaţie şi 25% homozigoţi de trasnlocaţie. În descendenţa, indivizii homozigoţi (atât cei normaii, cat şi cei de translocaţie) vor fi stabili, iar indivizii heterozigoţi de translocaţie vor segrega în acelaşi raport de 1:2:1. Hibrizii de translocaţie se identifică relativ uşor citologic, prin configuraţiile specifice de cercuri sau de inele şi prin procentul de circa 50% polen steril.

Apariţia translocaţiei a fost studiată la *microorganisme (Escherichia, Aspergillus, Neurospora),* la *Drosophila,* la plantele superioare (orz, porumb, mazăre, tomate, grâu, tutun, etc), la animale şi la om (relevata prin numeroase anomalii ereditare).

Prin translocaţie se pot transfera gene de rezistenţă la factorii de stress sau alte gene dorite de om. În acest scop, se aplică hibridarea cu specii sălbatice sau specii rustice, urmată de inducerea la hibrizi a unor dislocaţii cu ajutorul unor agenţi fizici sau chimici şi selecţia descendenţilor valoroşi care posedă genele transferate. Metoda a dat rezultate bune la grâu, unde E.R.Sears (1956) a reuşit să transfere gene de rezistenţă la rugina brună de la *Aegilops umbellulata* la grâul hexaploid. De asemenea, translocaţiile au fost utilizate la provocarea sterilităţii unor specii de plante agricole şi pomi fructiferi.

În cercetările de genetică teoretică unele translocaţii se folosesc drept markeri genetici în analizele citologice şi hibridologice, la fixarea heterozisului şi localizarea pe cromozom a unor gene.

La unele specii un număr mare de cromozomi au suferit translocaţii reciproce, formând aşa-numitele sisteme de translocaţie. Aşa este cazul celor mai multor specii de *Oenothera.* În timp ce *O. hookerii* formează în mod regulat 7 bivalenţi, la *0. biennis* cei 14 cromozomi se dispun în două ” inele” (unul din 6 şi altul din 8 cromozomi) datorită unor translocaţii multiple, iar la *O. muhcata* toţi cei 14 cromozomi formează un singur inel .

O importanţă deosebită în ameliorarea plantelor o are inducerea translocaţiilor multiple, în care sunt implicaţi toţi cromozomii din cariotip într-un singur inel de translocaţie. Acest fenomen, observat la *Oenothera lamarkiana* a servit ca model pentru crearea unor genotipuri homozigote la porumb. Astfel, C.R. Bumham (1946) a sugerat faptul că şi la porumb se poate obţine o linie de translocaţie multiplă care să includă într-un singur inel toţi cei 10 cromozomi din setul haploid. Prin încrucişarea acesteia cu o formă normală se obţine în F_1 un hibrid care conţine inelul haploid de translocaţie şi un set haploid de cromozomi (n = 10 cromozomi normali). Prin autopolenizarea hibrizilor F_1 de translocaţie vor rezulta în F_2 25 % genotipuri de translocaţie, 50 % heterozigoţi de translocaţie şi 25% homozigoţi normali, care reprezintă o linie pură genetic (homozigotă) obţinută numai în două generaţii.

Prin schimbul de segmente cromozomale cu ajutorul agenţilor dislocanţi se pot obţine noi grupe linkage cu gene favorabile, ducând astfel, la obţinerea de soiuri noi.

Principala metodă de detectare a translocaţiilor este cercetarea citologică în timpul meiozei sau mitozei, care pe baza configuraţiilor specifice în diferite faze ale diviziunii celulare, permit să se precizeze localizarea, tipul şi frecvenţa translocaţiilor la diferite organisme analizate.

Rezumat: Tipuri de restructurări si examinarea lor **;** Schimbari in numărul de gene**;** Schimbări in succesiunea genelor

Test autocontrol:

29.	Modificarile ce afecteaza ordinea genelor in cromozom sunt:	a) duplicatiile
		b) deletiile
		c) inversiile si translocatiile
30.	Deletiile homozigote pot fi letale la speciile:	a) poliploide
		b) poliploide si diploide
		c) diploide
31.	Starea de hemizigotie poate fi intalnita in cazul:	a) deletiilor
		b) duplicatiilor
		c) deletiilor si duplicatiilor
32.	In mentinerea efectului heterozis ar putea fi utilizate:	a) inversiile
		b) translocatiile
		c) duplicatiile
33.	Toate tipurile de modificari ale structurii cromozomilor determina:	a) modificari ale numarului de gene
		b) modificari in ordinea genelor
		c) efectul de pozitie

CAPITOLUL VII

VARIABILITATEA NUMĂRULUI DE CROMOZOMI

Numărul, forma şi mărimea cromozomilor sunt trăsături caracteristice stabile pentru diferite specii. Acestea alcătuiesc *cariotipul*, care este un criteriu de recunoaştere.

În celule reproducătoare este prezent un singur set cromozomal (starea *haploidă*, notată simbolic cu ***n***).

Numărul de bază, numărul *monoploid*, sau setul haploid al unei specii diploide, se notează cu ***x***.

Schimbarea numărului de cromozomi, poate avea loc spontan, sau artificial sub acţiunea factorilor mutageni. Modificarea numărului de cromozomi, constiutuie una din căile evoluţiei speciilor, fiind corelată cu modificarea cantităţii de ADN din celule.

Mutaţiile cromozomale numerice sunt cunoscute şi sub denumirea de ***mutaţii de genom*** şi sunt foarte numeroase la plante.

1. TIPURI DE MUTAŢII ALE NUMĂRULUI DE CROMOZOMI

Mutaţiile la nivelul numărului de cromozomi, sunt clasificate în funcţie de prezenţa sau absenţa unor cromozomi particulari sau a unor *seturi* întregi de cromozomi.

1. 1. EUPLOIDIA

Euploidia este reprezentată de starea celulară în care numărul de cromozomi corespunde cu numărul de bază sau cu un multiplu al acestuia. Indivizii afectaţi de euploidie se numesc *euploizi*.

După numărul de seturi cromozomale, euploidia poate fi:

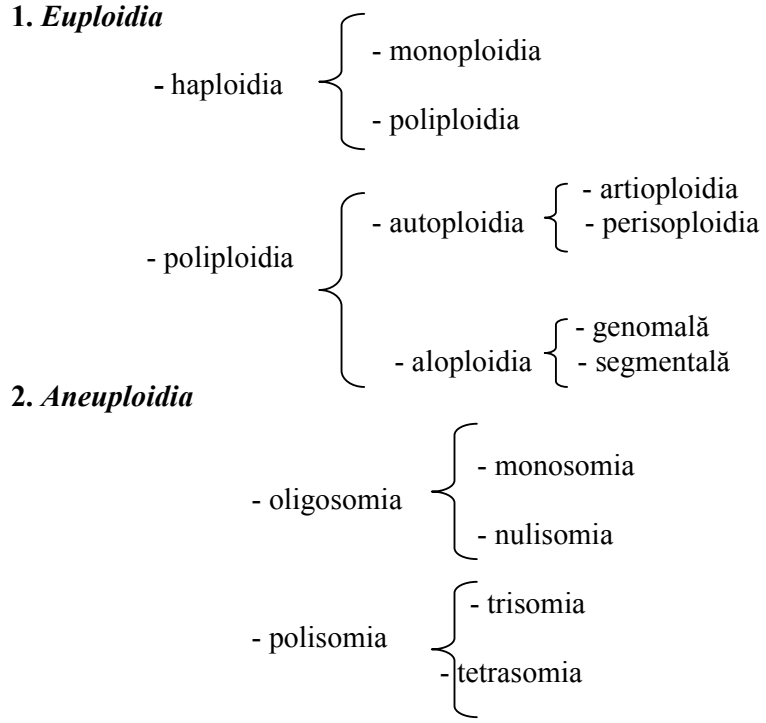
- ***monoploidie*** şi ***haploidie***, atunci când numărul de cromozomi din celulele somatice este egal cu numărul de bază (***x***), respectiv cu cel gametic (***n***);
- ***poliploidie***, numărul de cromozomi din celulele somatice cuprind mai mult decât două genomuri, fiind *triploizi* **3x**, *tetraploizi* **4x**, *pentaploizi* **5x**, *hexaploizi* **6x** etc.

În *aneuploidie* modificarea numărului de cromozomi este restrânsă la mai puţin de un set cromozomal şi afectează numai anumiţi cromozomi, prin adăugarea a unu, doi cromozomi şi chiar mai mulţi (*polisomie*), sau pierderea unor cromozomi (*oligosomie*).

Prezentarea schematică a diferitelor schimbări în numărul de cromozomi este ilustrată în fig. 7. 1.

Poliploidia este fenomenul de multiplicare a numărului cromozomal de bază. ***Autoploidia*** rezultă în urna multiplicării setului cromozomal de bază propriu, sau în urma hibridării unor indivizi poliploizi care aparţin la aceiaşi specie. La autoploizi, seturile cromozomale sunt omoloage.

Fig. 7.1. Schimbări în numărul de cromozomi



Aceştia pot fi: ***artioploizi*** (cu numărul de bază multiplicat într-un număr impar: **3x**, **5x**, **7x** etc)sau **perisoploizi (** 4x, 6x etc).

Multiplicarea numărului de cromozomi atrage după sine unele modificări ereditare, care vor fi protejate şi favorizate de selecție dacă sunt utile speciei.

1. 1. 1. CARACTERISTICILE AUTOPLOIZILOR

În celulele poliploide apar o serie de modificări care sunt identificate prin investigare microscopică. Datorită numărului sporit de cromozomi, celulele sunt mai mari, diametrul celulelor somatice este mai mare şi conțin un număr sporit de cloroplaste. În celula poliploidă numărul cromocentrilor nucleolari este de asemenea mai mare. Diametrul grăunciorilor de polen de la organismele poliploide, ca şi numărul porilor germinativi a polenului este mai mare.

Macroscopic se disting mai multe particularități, habitusul plantelor este mai mare şi mai viguros, cu număr mic de tulpini, lăstari sau ramificații, dar de dimensiuni mult mai mari. Plantele au flori mai puține dar mari şi intens colorate. Aparatul foliar este alcătuit dintr-un număr mai mic de frunze, de dimensiuni mai mari şi de un verde intens.

La plante, poliploidia este corelată şi cu importante modificări fiziologice şi biochimice. Astfel, plantele prezintă o cantitate de clorofilă şi o capacitate sporită de fotosinteză, rezistență crescută la stresul climatic şi agenți patogeni, manifestând, în general, o bună *homeostazie* (adaptabilitate) la condiții de mediu nefavorabile, asociate însă cu tardivitate.

Ca urmare a efectului de dozaj, plantele poliploide au o capacitate crescută de sinteză a substanțelor proteice, a glucidelor, a vitaminelor, pigmenților etc.

Fertilitatea autoploizilor, în general, este mai scăzută, mai ales la perisoploizi, deoarece apar diferite anomalii în desfăşurarea meiozei. Anomaliile sunt frecvente în *profaza* I, deoarece alături de bivalenți, se formează şi uni-, tri- şi tetra- valenți. Multivalenții segregă dezordonat (nebalansat) în *anafaza* I ceea ce duce la formarea de gameți neechilibrați, pe acest considerent se recomandă

utilizarea plantelor poliploide numai atunci când din punct de vedere economic, interesează masa vegetativă şi nu producţia de seminţe (plante furajere, plante ornamentale, sfeclă de zahăr etc.).

1. 1. 2. INDUCEREA ARTIFICIALĂ A POLIPLOIDIEI

Pentru crearea de poliploizi artificiali s-au pus la punct numeroase metode de modificare a diviziunii celulare.

Se pretează la poliploidizare acele specii care prezintă un număr mic de cromozomi, la care în primul rând se utilizează masa vegetativă şi mai puţin seminţele, precum şi speciile care prezintă un grad ridicat de sterilitate, creându-se posibilitatea de a se multiplica vegetativ.

Cele mai utilizate metode de inducere a poliploidiei sunt:

- *tratamente cu şocuri de temperatură*, ridicate sau scăzute, aplicate la diferite organe, ţesuturi sau celule aflate în diviziune. Şocurile de temperatură dereglează aparatul mitotic (fusul nuclear) generând *artioploidie*;
- *metoda centrifugării şi a iradierii*, conduc la inhibarea fusului de diviziune, microtubulii nu se asamblează ca să formeze firele acromatice sau sunt distruşi, fiind posibilă apariţia unor *nuclei de restituţie*;
- *metoda regenerării* se bazează pe dublarea numărului de cromozomi prin *endomitoză*, frecvent întâlnită în culturile de celule şi calusurile de cicatrizare (punctul de altoire), celule care se multiplică în prezenţa *heteroauxinei*;
- *metoda poliembrioniei* se bazează pe predispoziţia unor specii (*Zea mays, Secale cereale* etc.), de a forma seminţe cu doi sau mai mulţi embrioni, dintre care unii pot fi poliploizi;
- *metoda tratamentului chimic*, cu *colchicină* sau cu *proto-oxid de azot*, este cea mai eficientă şi mai frecvent utilizată.

Metoda a fost elaborată de ***A.F. Blakeslee*** şi ***O.T. Avery*** (1937) şi se bazează pe acţiunea colchicinei asupra fusului acromatic din celule în diviziune. Colchicina este un alcaloid extras din bulbi de brânduşă de toamnă (*Colchicum autumnale*) care datorită acţiunii ei citostatice, are capacitatea de a bloca formarea fusului şi astfel, după o mitoză, celulele vor fi artioploide (2n 4n) după două mitoze celulele vor avea 8n cromozomi
(2n $\longrightarrow$ 4n $\longrightarrow$ 8n).

Soluţia apoasă de colchicină în concentraţie de 0,1 – 1,0% poate fi utilizată pentru tratamentul seminţelor, a vârfurilor vegetative şi rădăcinilor plantelor, a mugurilor, a florilor sau inflorescenţelor.

Sub influenţa colcjicinei, diviziunea suferă unele modificări, fiind denumită ***C-mitoză*** şi ***C-meioză***. Colchicina, nu are acţiune aemnificativă asupra cromozomilor, clivarea centromerului şi separarea cromatidelor este normală, în interfaza dintre diviziuni formându-se cromozomi cu morfologie specifică. Colchicina blochează polimerizarea tubulinei şi în acest fel, formarea fusului de diviziune este anihilată.

În urma colchicinizării, în mitoză apar schimbări specifice şi anume: *profaza* decirge normal. În metafază, în absenţa fusului de diviziune, cromozomii nu se dispun la centrul celulei, pentru a forma placa metafazică, rămânând dispersaţi în citoplasmă (*pseudometafază* sau *C-metafază*). La cromozomii puternic condensaţi, cromatidele apar desfăcute, fiind unite numai la centromer (configuraţia literei X, *cromozomi-X* sau *cromozomi-C*). Cele patru cromatide ale unei perechi de cromozomi rămân în aceeaşi celulă, formând nucelul de restituţie cu un număr dublu de cromozomi.

Meioza celulelor colchicinizate se caracterizează prin absenţa fenomenelor sinaptice. Astfel că în *C-metafază*, cromozomii nu formează bivalenţi, ei rămân ca univalenţi. În *C-anafaza I*, cromatidele surori nu se separă, toţi cromozomii fiind incluşi într-un singur nucleu, denumit nucleu de restituţie, care va avea un număr dublu de cromozomi. Meioza de acest tip, generează formarea gameţilor diploizi, care în urma fecundării, vor da naştere zigoţilor tetraploizi.

Din semințele tratate cu colchicină, pot apărea plante noi, în totalitate poliploide. Aplicarea tratamentului la părți vegetative ale plantei, determină formarea de *himere*, țesuturi *mixoploide*, în care alternează celule duploide şi poliploide.

1. 1. 3. IMPORTANȚA AUTOPLOIDIEI

Poliploidia, este un proces cu importanță deosebită, atât pentru evoluție cât şi pentru ameliorarea plantelor.

În evoluție, autoploidia reprezintă o importantă sursă de variabilitate, numeroase specii având o origine poliploidă (cartoful 2n = 48; alunele de pământ 2n = 40; cafeaua 2n = 22, 44,66, 88 etc.)

A. Müntzing (1967), consideră că există o corelație pozitivă între numărul de cromozomi şi durata vieții unei plante. Numeroase specii perene au provenit din plante anuale cu un numai mic de cromozomi. Astfel, *Sorghum sudanensis*, formă anuală, are n = 10 cromozomi în timp ce forma perenă, *Sorghum helepense* are n = 20 cromozomi; *Helianthus annus*, cu n = 17, este o specie anuală, pe când *Helianthus tuberosus*, specie perenă are n = 51 cromozomi.

După studiile lui ***G. Tischler*** (1967) cu privire la repartiția pe glob a acestui fenomen se constată că frecvența poliploidiei creşte spre poli şi scade spre zonele calde. În regiunile arctice, speciile poliploide reprezintă 92% din floră.

Pentru ameliorarea plantelor, autoploizii constituie un material biologic de o importanță deosebită.

Poliploidia determină sporirea cantității de ADN, implicit a numărului de gene şi respectiv a variabilității genetice generale de *efectul de doză*.

La plante, poliploidia este corelată cu importante modificări morfologice, fiziologice şi biochimice. În consecință, în programele de ameliorare a plantelor sunt utilizate formele autoploide, valorificându-se anumite particularități, cum ar fi, vigoarea vegetativă, conținut ridicat în proteine sau în vitamine, pigmenții, precum şi rezintența sporită la temperaturi excesive, secetă, boli şi dăunători.

Din punct de vedere practic poliploidia are o importanță economică deosebită. Astfel, la triploizi, la care sterilitatea împiedică reproducerea sexuată, nu se formează semințe, ceea ce este deosebit de util în cazul strugurilor pentru stafide (3n = 57), pepenelui verde (3n = 33), bananierului (3n = 33) sau ananasului (3n = 75), forme preferate de consumatori.

La sfecla de zahăr, triploizii au cel mai ridicat conținut de zahăr şi cea mai mare producție de rădăcini.

Formele autoploide sunt importante pentru sectorul plantelor ornamentale, deoarece dimensiunile florilor sunt mai mari, pigmentația este mult mai intensă şi florile se păstrează mai mult (lalele, crizanteme, garoafe, narcise).

Producerea de semințe este un alt domeniu în care autoploidia are o mare aplicabilitate. Datorită segregării deficitare şi încetinită, prin autoploidie se pot obține combinații hibride, cu heterozis mai stabil în succesiunea generațiilor.

1. 1. 4. HAPLOIDIA

Haploidia, este fenomenul prin care numărul de cromozomi din celulele somatice se reduce la jumătate. În celulele țesutului somatic, plantele haploide au numărul de cromozomi egal cu cel din celulele gametice.

După modul în care se formează, formele haploide se grupează în două categorii: ***monoploide*** şi ***polihaploide***.

Monoploidia reprezintă starea celulelor somatice, sau a organismelor, la care numărul de cromozomi corespunde cu numărul de bază, posedă un singur set cromozomal (x). Monoploizii, sunt haploizii speciilor diploide, posedând numărul gametic de cromozomi.

Polihaploidia reperezintă reducerea la jumătate a numărului de cromozomi din țesut somatic al plantelor poliploide. Polihaploizii, sunt haploizii speciilor poliploide.

1. 1. 5. CARACTERISTICILE HAPLOIZILOR

La nivelul structurii microscopice, haploidia corelează cu reducerea volumului nuclear şi a întregii celule. Celulele somatice sunt mai mici şi înglobează un număr redus de cloroplaste, acestea fiind repartizate neuniform pe unitatea de suprafaţă a frunzei.

Toate caracteristicile morfologice ale haploizilor sunt subdimensionate, vigoarea este scăzută, talia este redusă, frunzele sunt mai puţine, înguste şi de culoare mai deschisă.

Reducerea taliei şi a vitalităţii sunt mai pregnante la haploizii proveniţi de la plante alogame. Existenţa unui singur set cromozomal, permite manifestarea tuturor genelor recesive, atât a celor utile cât şi a celor indezirabile. La plantele autogame consecinţele morfologice şi fiziologice nu sunt atât de acute, deoarece în starea diploidă a organismului, homozigoţia este o condiţie normală.

Haploizii au o fertilitate extrem de redusă, la monoploizi sterilitatea este foarte ridicată deoarece meioza se desfăşoară anormal. Prezenţa în celulele mamă a gameţilor, a unui singur set cromozomal, împiedică formarea bivalenţilor şi repartizarea balansată a acestora în anafaza I a meiozei. Cromozomii se repartizează neregulat spre cei doi poli, producând nuclei anormali şi implicit sterilitatea. Dacă în anafaza I a meiozei, întregul set de cromozomi se deplasează la un singur pol al celulei, meioza homeotipică se desfăşoară normal şi ca rezultat se vor forma 50% spori normali şi funcţionali. Probabilitatea ca migrarea să aibe loc spre un singur pol al celulei este de $(1/2)^{x-1}$, unde x este numărul cromozomi. Relaţia asigură cunoaşterea frecvenţei gameţilor viabili, în funcţie de numărul cromozomilor. Datorită stării de hemizigoţie (prezenţa într-un locus a unei singure alele), ganeţii monoploizilor sunt identici. Un grad ridicat de sterilitate se înregistrează şi la organismele polihaploide, provenite din indivizi cu grad ridicat de poliploidie, datorită formării de univalenţi, trivalenţi etc. Prin formarea bivalenţilor, materialul genetic se poate distribui echilibrat în gameţi şi astfel aceştia vor fi funcţionali.

1. 1. 6. POSIBILITĂŢI DE OBŢINERE A HAPLOIZILOR

Haploidia este condiţionată de genotip, astfel la *Gossypium barbadense* variază în limitele 0,025-0,037%, la *Datura stramonium* este de 0,018%, la *Zea mays*, de 0,05%, la *Anthirrhinum majus* este 0,01%, la *Triticum monococcum* este de 0,05%, la *Triticum aestivum* de 0,025% etc.

Posibilităţile de obţinere a haploizilor sunt:

1. *androgeneza*, atunci când fecundarea este simplă (embrionii se formează fără fecundare, o singură spermatie polinică fecundează nucleul secundar, din care rezultă endospermul).

2. *ginogeneza*, prin *partenogeneză*, rezultă embrioni din oosfera nefecundată şi *apogamie*, atunci când embrionul haploid se dezvoltă din *sinergide* sau *antipode*. Haploizii se pot forma ca urmare a fenomenului de *poliembrionie,* adică apariţia de embrioni gemeni, din care unul poate fi haploid.

Un exemplu de organism haploid natural obţinut prin *partenogeneză* (ginogeneză) este trântorul, masculul speciei *Apis melifera*, cu 2n = 16 cromozomi (starea diploidă este 2n = 32).

1. 1. 7. INDUCEREA ARTIFICIALĂ A MONOPLOIDIEI

Căile de producere a formelor monoploide pot fi *in vivo* cât şi *in vitro*.

Metodele utilizate pentru inducerea ***in vivo*** a haploidiei sunt:

- *iradierea polenului* cu radiaţii ionizante sau ultraviolete în vederea distrugerii unei spermatii, ce duce la formarea de haploizi dintr-o oosferă nefecundată;
- *polenizarea întârziată şi tratamentele cu şocuri de temperatură* imediat după polenizare;
- *îndepărtarea staminelor florale*, fapt ce împiedică polenizarea normală;
- *inactivarea nucleilor spermatici* prin tratamente cu diferite substanţe chimice, care favorizează o dezvoltare partenogenetică;
- *inhibarea creşterii tubului polinic* prin tratament cu *hidrazida maleică.*

Metodele de inducere ***in vitro*** a haploidiei sunt:

- *culturi de antere*, din grăunciori de polen imaturi sau în *culturi de ovule* nefecundate, pe medii artificiale.

Tehnica de obținere a în culturi de antere sau ovule nu este aplicabilă la toate organismele, deoarece există unele specii refractare la aceste procedee.

O tehnică deosebit de avantajoasă este *metoda bulbosum*, în care forma diploidă de orz (*Hordeum sativum*) a fost polenizată cu polen de la forma sălbatică *Hoedeum bulbosum*. În succesiunea diviziunilor mitotice cromozomii speciei *Hordeum bulbosum* au fost eliminați, dând naştere unui embrion haploid. Procesul de haploidizare este aproape similar cu fenomenul de incompatibilitate genetică între seturile cromozomale ale celor două specii, chiar dacă fecundarea are loc. Prin utilizarea metodei *bulbosum* s-au obținut rapid forme homozigote, fiind posibilă introducerea în cultură a numeroase varietăți noi de orz. Metoda se pretează şi la alte specii.

1. 1. 8. IMPORTANȚA HAPLOIDIEI

În studiile de citogenetică, haploizii asigură studierea fiecărui cromozom în parte, evidențiindu-se astfel unele duplicații, precum şi comportamentul cromozomilor în meioză, se pot studia relațiile sinaptice dintre ei. Pe baza împerecherii, sub formă de bivalenți sau multivalenți, s-a stabilit originea poliploidă a unor specii.

Importanța genetică a monoploizilor constă în manifestarea integrală a tuturor genelor, inclusiv a celor recesive. Din acest punct de vedere, monoploizii constituie un material ideal pentru studiile de mutageneză. La monoploizi, mutațiile apărute pot fi decelate chiar în anul producerii lor, deoarece se manifestă în fenotip toate genele, inclusiv cele recesive, contrar celor de la poliploizi, care trebuiesc căutate în generațiile segregante.

Prin dublarea numărului de cromozomi se obțin linii izogene, superioare celor cosangvine.

1. 1. 9. ALOPLOIDIA

La formele aloploide are loc multiplicarea seturilor de cromozomi provenite prin hibridare interspecifică sau intergenerică. Formele aloploide se pot realiza prin două sisteme:

- prin încrucişarea dintre specii diploide cu specii poliploide, care au cel puțin câte un genom omolog, formând hibrizi îndepărtați cu grad foarte diferit de fertilitate sau;
- prin încrucişarea între specii îndepărtate genetic, urmată de dublarea numărului de cromozomi la hibrizii $\mathbf{F_1}$, rezultă *amfidiploizi* sau *amfiploizi*.

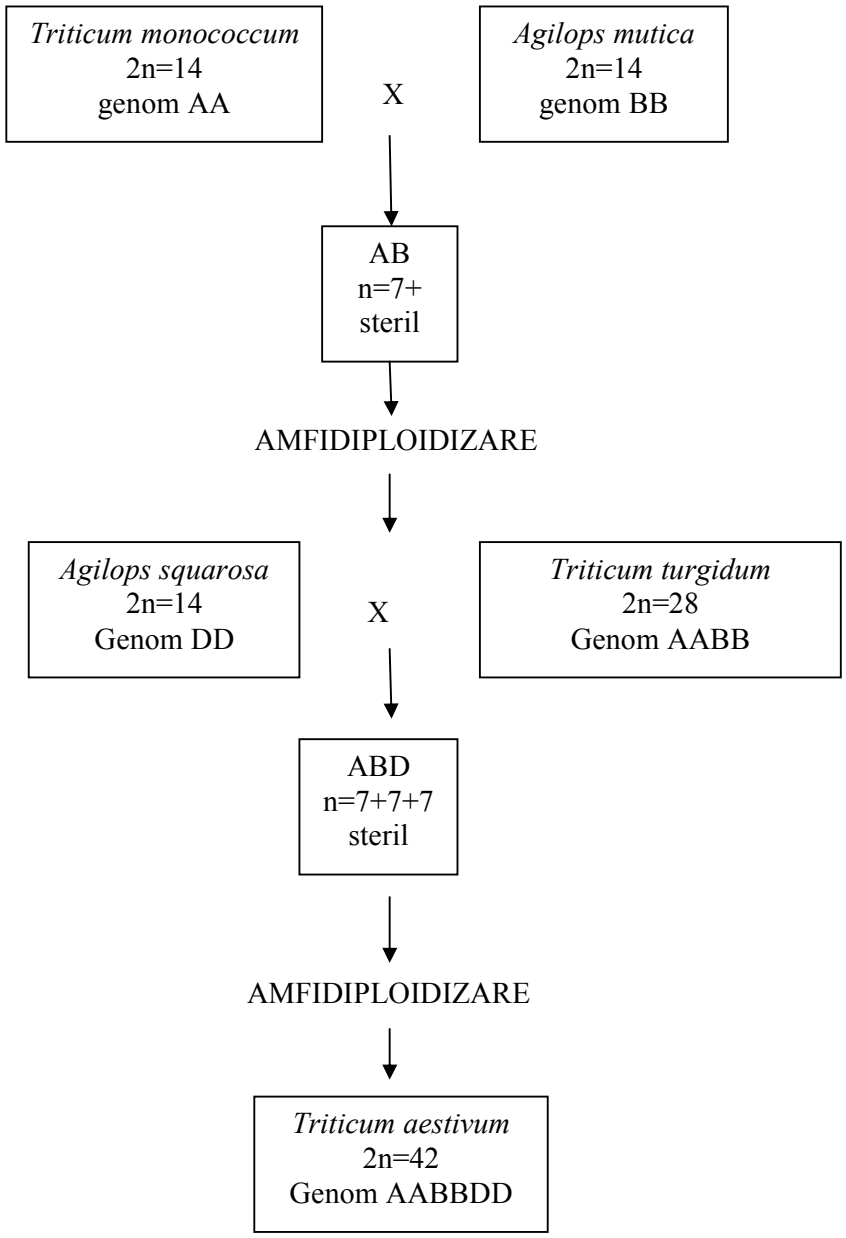
1. 1. 10. IMPORTANȚA ALOPLOIDIEI

Pentru natură, aloploidia, în special cea genomală, este deosebit de importantă, asigurând evoluția speciilor.

Un poliploid natural, este grâul comun (*Triticum aestivum* 2n = 6x = 42). Prin studiul speciilor sălbatice diploide sau tetraploide, cu numărul de bază, x = 7, s-a reconstituit evoluția grâului. În meioză, în celulele mamă se formează 21 de bivalenți, fiecare cromozom fiind reprezentat de un singur omolog. Formarea bivalenților este controlată de gena ***Ph***, situată pe brațul lung al cromozomului **5B**. Cu toate că specia este hexaploidă, comportamentul "diploid", simulat de formarea bivalenților, este asigurat de gena ***Ph***.

Grâul comun este originar în trei specii diploide diferite şi cu genomuri diferite, AA, BB şi DD (vezi figura 7. 2.).

Fig. 7. 2.
Diagrama evoluției posibile a grâului hexaploid (*Triticum aestivum*)



Originea aloploidă a fost stabilită pentru multe alte specii. *Prunus domestica* este un aloploid între *Prunus spinosa* (2n=4x=32) şi *Prunus cerosifera* (2n=2x=16). Alte exemple de specii aloploide: *Nicotiana tabacum*, 2n = 48 (*n. silvestrys*, 2n = 24 x *N. tomentosiformis*, 2n=24), *Brassica napus*, 2n = 38 (*B. oleracea*, 2n = 18 x *B.capestris*, 2n = 20) etc.

Amfiploizii manifestă atât caracteristicile celor două forme parentale, cât şi a poliploizilor, manifestând homeostazie ridicată.

Amfiploidia este o cale deosebit de facilă pentru obținerea de specii noi, artificiale. O primă încercare în acest sens este a lui ***G.D. Karpecenko*** (1928), care a obținut un hibrid fertil între varză (*Brassica oleracea*, 2n = 18) şi ridiche (*Raphanus sativus*, 2n = 18). Hibridul obținut a fost însă steril.

1. 2. ANEUPLOIDIA

Aneuploidia, este fenomenul prin care modificarea numerică afectează numai anumite perechi omoloage de cromozomi, adică în nucleul celulelor există în plus sau în minus, unul sau mai mulţi cromozomi.

Dacă într-un cariotip alături de numărul diploid de cromozomi (2n), se află unu sau mai mulţi cromozomi, aneuploidia este de tip *hiperploid (polisomie)*. Dacă din garnitura diploidă se pierde unul sau mai mulţi cromozomi, aneuploidia este de tip *hipoploid (oligosomie)*.

Cu toate că aspectele genetice şi citogenetice ale fenomenului de aneuploidie sunt diferite, în esenţă toate au cauze comune şi anume:

- *non-disjuncţia* cromozomilor în mitoză sau meioză şi, în consecinţă, repartizarea inegală a materialului genetic la celulele fiice;
- formarea *trivalenţilor* şi *univalenţilor* în loc de bivalenţi normali;
- apariţia *aberaţiilor* în *structura* unor cromozomi;
- absenţa *sinapsei* sau *sinapsis parţial* între unii cromozomi, fenomen mai frecvent observat la cromozomii lungi.

1. 2. 1. TIPURI DE ANEUPLOIDIE

Hiperploidia sau ***polisomia***, se întâlneşte în situaţia când, pe lângă perechea de cromozomi omologi se găseşte un cromozom în plus, adică 2n + 1, fenomen numit *trisomie* sau, când unei perechi de cromozomi i se alătură doi cromozomi, 2n + 2, fenomen denumit *tetrasomie*.

Trisomia a fost evidenţiată, pentru prima dată, de ***A.F. Blakeslee*** (1921) într-o cultură de *Datura stramonium*, 2n = 24, a căror plante posedau habitus modificat, viguroase şi cu frunze deosebite de celelalte. ***J. Belling*** (1924), analizându-le citologic constată existenţa unui cromozom în plus, adică 2n=24+1, faţă de forma *euploidă* normală.

După tipul extracromozomului şi a configuraţiilor din profaza I, există mai multe clase de trisomie:

- *trisomia primară*, atunci când în meioză extracromozomul se comportă asemănător cu cei doi omologi la care se ataşează, formând o configuraţie în lanţ, un *trivalent*. Dacă se formează un *extravalent*, la două perechi de cromozomi, fenomenul se numeşte *trisomie primară dublă* (2n+1+1);
- *trisomia secundară*, extracromozomul este un *izocromozom* (*izocromozomul* se formează ca urmare a diviziunii transversale şi nu longitudinale a centromerului),care în meioză, în zigonem, formează configuraţii de inel;
- în *trisomia terţiară*, extracromozomul este un cromozom translocat, care în meioză împreună cu celelalte două perechi, formează un lanţ.

Tetrasomia a fost observată pentru prima oară tot la *Datura stramonium*. În urma fecundării unui ovul n+1 cu polen n+1, rezultă un tetrasom. *Polisomia* poate afecta oricare pereche de cromozomi, atât la organismele diploide cât şi la cele poliploide. În general, tetrasomia nu are afecte negative asupra organismului vegetal.

Şi la om sunt cunoscute câteva maladii genetice determinate de fenomenul de trisomie autozomală sau heterozomală.

Sindromul Down sau *trisomia 21*, a fost primul exemplu de trisomie la om, descrisă în 1866 de către ***Down***. Persoanele afectate au expresia feţei de tip mongoloid, însoţită de anomalii cardiace, întârziere minatală, talie redusă, greutate corporală mică.

Sindromul Klinefelter (**XXY**) sau trisomia pentru cromozomii sexului, determină la persoanele afectate o slabă dezvoltare sexuală, atrofie testiculară, ginecomastie, retardare mintală şi sterilitate.

Există şi tipuri de sindrom *Klinefelter* cu constituţia **XXYY** sau **XXXY**. Adiţia suplimentară de heterozomi amplifică severitatea simptomelor, manifestări antisociale şi comportament agresiv, anomalii ale personalităţii, înălţime foarte mare.

Hipoploidia sau **oligosomia** reprezintă starea unor celule sau a unor organisme care au pierdut un cromozom din garnitura normală, fenomen denumit *monosomie* (2n-1) sau o pereche de cromozomi, fenomen denumit *nulisomie* (2n-2).

Hipoploidia se întâlneşte foarte rar la speciile diploide. Organismele monosomice sau nulosomice nu sunt viabile dacă cromozomul care lipseşte este de importanţă vitală. Şansa de supravieţuire o au numai speciile poliploide, ca urmare a fenomenului de compensare, determinat de efectul de doză. *Monosomia* pentru cromozomul **X**, sau *sindromul Turner*, se întâlneşte la specia umană. Femeile cu un singur cromozom **X** nu posedă cromatină sexuală, au statură mică, gât plat, dezvoltare sexuală rudimentară, întârziere mintală.

La mamifere, formele trisomice sau monosomice pentru heterozomii **X**, pot fi depistate citologic prin intermediul cromatinei *sexuale Barr*.

1. 2. 2. CARACTERISTICILE ANEUPLOIZILOR

În general, vitalitatea şi fertilitatea aneuploizilor, este mai redusă.

Gametul femel tolerează mai bine aneuploidia, gameţii masculi aneuploizi nu sunt viabili, aneuploidia transmiţându-se pe linie maternă.

Ca urmare a efectului de doză, polisomii prezintă unele particularităţi, specifice cromozomilor suplimentari. La oligosomi, ca urmare a reducerii dozei de material genetic, apar caracteristici noi faţă de formele iniţiale 2n, fapt care permite stabilirea importanţei fiecărui cromozom.

1. 2. 3. IMPORTANŢA ANEUPLOIZILOR

Din punct de vedere teoretic, aneuploizii asigură identificarea rolului genetic al unor cromozomi, legăturile dintre cromozomi, precum şi rolul diferitelor gene în expresia fenotipică a unor caracteristici. Stabilirea rolului pe care-l au cromozomii, prin absenţa lor din garnitura cromozomală, este dificil de realizat, deoarece fiecare cromozom are o semnificaţie bine conturată în supravieţuirea gametului sau a individului.

Deşi organismele aneuploide nu au importanţă economică directă, cercetările în acest domeniu au luat amploare, datorită rolului lor în procesul de ameliorare a plantelor.

O realizare deosebită în acest domeniu a avut-o ***E.R. Sears*** (1953), care a reuşit să creeze 21 de linii nulisomice la soiul de grâu *Chinese Spring*, stabilind astfel rolul genetic al fiecărui cromozom. Un caracter, dacă este controlat de o genă plasată pe un anumit cromozom, efectele acestei gene pot lipsi la plantele nulisomice pentru perechea respectivă de cromozomi.

După obţinerea tuturor liniilor nulisomice şi precizarea rolului genetic al cromozomilor s-a putut trece la substituirea acestora dintr-un genom, cu cromozomi aparţinând altui genom, de la altă specie. Metoda permite înlocuirea unuia sau mai multor cromozomi din genomul diploid a unei specii, cu un număr egal de cromozomi omologi, proveniţi de la o altă specie, realizându-se astfel genotipuri cu o valoare de recombinare îmbunătăţită.

În liniile de substiutuţie intraspecifică, pot fi fixate anumite caracteristici valoroase de la *donori* cu gene particulare valoroase în *receptori* cu structură genetică deficitară pentru o genă (rezistenţa la boli şi la condiţii nefavorabile de mediu).

Lucrările lui ***B.C. Jenkins*** (1956), privind adiţia şi substituţia de cromozomi de la secară (specie donor), purtătoarea unor caractere valoroase (rezistenţa la ger, la soluri acide şi dăunători) la grâu (specie receptor), a dus la obţinerea de linii de substituţie cu 2n=42 cromozomi, dintre care 40 de cromozomi ai grâului şi doi cromozomi de la secară, purtători de gene valoroase.

Linii de adiţie la grâu au fost obţinute de ***J.G. O'Mara*** (1941), prin încrucişarea amfidiploidului *Triticale* (2n=56) cu *Triticum aestivum* (2n=42). În descendenţă au fost identificaţi indivizi cu 2n = 42 + 2, din care 42 de cromozomi proveneau de la grâu şi doi cromozomi de la secară.

Utilizarea aneuploidiei în ameliorarea plantelor are şi unele dezavantaje, deoarece, uneori specia receptoare pierde gene valoroase, situate pe cromozomul substituit, iar o dată cu încorporarea cromozomului străin, pe lângă gene valoroase, pot fi incluse şi unele gene nedorite.

Numărul de cromozomi, este o caracteristică de bază a tututror organismelor.

Întregul genom (euploidie), sau numai unele perechi de cromozomi (aneuploidie), pot fi modificate de variațiunile numerice ale cromozomilor.

Multiplicarea numărului de cromozomi duce la formarea de genotipuri poliploide. Autoploidia, se manifestă în cazul când, numărul propriu de cromozomi este multiplicat. La plante, frecvent este întâlnită autoploidia şi aproape este inxistentă la animale. Poate apărea în mod natural sau poate fi indusă în urma tratamentului cu colchicină sau cu alți agenți care influențează diviziunea celulară.

Aloploidia apare prin încrucişarea a două specii diferite, urmată de dublarea numărului de cromozomi. Această tehnică îşi gaseşte aplicabilitatea în ameliorarea plantelor cultivate, deoarece permite crearea unor specii noi, care să îmbine proprietățile ambelor forme parentale.

Plantele poliploide prezintă unele caracteristici utile din punct de vedere economic, mai ales atunci când prezintă interes masa vegetativă.

Aneuploizii au avut de asemenea un rol important în evoluția speciilor. Monosomii (2n-1) şi trisomii (2n+1) permit precizarea rolului unor cromozomi şi întocmirea hărților cromozomale.

Rezumat: Tipuri de mutații ale numărului de cromozomi ; Euploidia; Caracteristicile autoploizilor ; Inducerea artificială a poliploidiei; Importanța autoploidiei; Haploidia; Caracteristicile haploizilor; Posibilități de obținere a haploizilor; Inducerea artificială a monoploidiei; Importanța haploidiei; Aloploidia; Importanța aloploidiei; Aneuploidia; Tipuri de aneuploidie; Caracteristicile aneuploizilor; Importanța aneuploizilor

Test autocontrol:

34.	Prin numarul de baza X, se intelege:	a) numarul de cromozomi din celulele somatice
		b) numarul de cromozomi din celulele sexuale
		c) numarul haploid de cromozomi ai speciei ancestrale
35.	Variatiile numerice ce afecteaza intregul set de baza sunt:	a) poliploidia si monoploidia
		b) aneuploidia
		c) polisomia
36.	In cazul unei specii cu 2n=22, cati trisomici diferiti se pot forma?	a) 22
		b) 11
		c) 21
37.	Fertlitatea este mai scazuta in cazul:	a) perisoploizilor
		b) artioploizilor
		c) autopoliploizilor
38.	*Prunus domestica* este o specie:	a) autopoliploida
		b) monoploida
		c) aloploida
39.	Hibridul interspecific este:	a) steril
		b) fertil
		c) fertile, dupa dublarea numarului de cromozomi
40.	In procesul de productie prezinta importanta formele:	a) aneuploide
		b) monoploide
		c) poliploide
41.	Liniile izogene pot fi obtinute din :	a) poliploizi
		b) monoploizi
		c) poliploizi

CAPITOLUL VIII
EREDITATEA CITOPLASMATICĂ (EXTRANUCLEARĂ)

1. CAZURI DE EREDITATE CITOPLASMATICĂ

Descoperirile genetice fundamentale păreau să confirme ipotezele multor geneticieni că substratul material al eredității ar fi localizat exclusiv în nucleu, care ar deține astfel un rol singular în ereditate.

Ideea că citoplasma în deplineşte totuşi un anumit rol în ereditate nu a fost însă abandonată, mai ales ca o serie de date faptice dovedeau acest lucru. Astfel, în anul 1902, botanistul C. Correns remarcase la planta Mirabillis jalapa apariția unor ramuri anormale, cu frunze albicioase sau având porțiuni verzi, ce alternau cu porțiuni albe, lipsite de cloroplaste-forma albomaculata. Efectuâna polenizări între florile de pe ramurile normale si floride de pe ramurile cu frunze anormale, Correns ajunge la o serie de date interesante (tab 1.).

Tabelul 8. 1.

Ramuri cu flori mascule		Ramuri cu flori femele	Descendenți F1
Frunze	Verzi	Verzi	Verzi
		Albe	Albe
		Pătate	Verzi,albe,pătate
	Albe	Verzi	Verzi
		Albe	Albe
		Pătate	Verzi,albe,pătate
	Pătate	Verzi	Verzi
		Albe	Albe
		Pătate	Verzi,albe,pătate

Rezultă din tabelul 1 că segregarea descendenților nu se face conform proporțiilor mendeliene, aceştia semănând cu formarea maternă, cu excepția florilor de pe ramuri cu frunze pătate, care, independent de forma masculă, determină apariția unor descendenți cu frunze normale, albe şi pătate.

Un alt caz a fost descris de către Gregory (1915) la Primula sinensis, la care florile de pe ramuri cu frunze verzi produc numai descendenți verzi, cele de ramuri cu frunze albe produc numai descendenți albi, iar cele de pe ramuri cu frunze variegate-descendenți verzi, albi sau pătați.

Explicația fenomenului, care ulterior a mai fost confirmat şi la numeroase alte plante (peste 20 de genuri), constă în aceea că sacul embrionar matern conține "primordiile" cloroplastelor, în timp ce grăunciorii de polen, fiind mult mai mici, sunt apropape total lipsiți de citoplasmă şi de primordii ale cloroplastelor, aşa încât zigotul moşteneşte tipul de cloroplaste al florilor femelă. Cloroplastele şi deci colorația fruzelor sunt transmise pe cale extranucleară, numai pe baza posibilităților ereditare de care dispune citoplasma.

În sfera aceluiaşi fenomen de ereditate citoplasmatică pe linie maternă se încadrează şi diferențele care apar la încrucişări între anumite animale sau plante, în funcție de forma maternă.

La plante, din încrucişarea reciprocă dintre două specii de mușchi, Funaria higrometrica si F. Mediterranea, deosebite destul de mult prin forma si mărimea frunzelor, prin tipul organelor de reproducere ş.a. au rezultat hibrizi asemanători mult mai mult cu genitorul matern decât cu cel patern.

Fenomenul de transmitere a unor caractere prin intermediul citoplasmei materne se numeşte *matroclinie*.

Faptul este explicabil având în vedere că celulele sexuale femele conţin o cantitate mult sporită de citoplasmă, în comparaţie cu celele mascule, ceea ce asigură transmiterea ereditară a unor anumite însuşiri. În afară de aceasta, la mamifere, organismul matern poate influenţa dezvoltarea hibridului în cursul vieţii intrauterine. De asemenea, la plantele superioare, zigotul începe să se dividă imediat după fecundare, formând embrionul încă din perioada când acesta se afla în organismul matern. Pe de altă parte, la Angiospermae endospermul, depozitatul substanţelor nutritive de rezervă ale embrionului, este format din celule triploide (3n), cu doua garnituri de cromozomi (2n) de origine maternă şi numai o garnitură (n) de origine paternă, ceea ce face ca influenţarea endospermului să fie mai pronunţată pe linie maternă. Esenţial însă în ereditatea extranucleară ete faptul că în citoplasmă se localizează genomuri specifice (cloroplastic, mitocondrial) sau factori genetici necromozomiali, cu aparat genetic propriu, care au rol direct în ereditate.

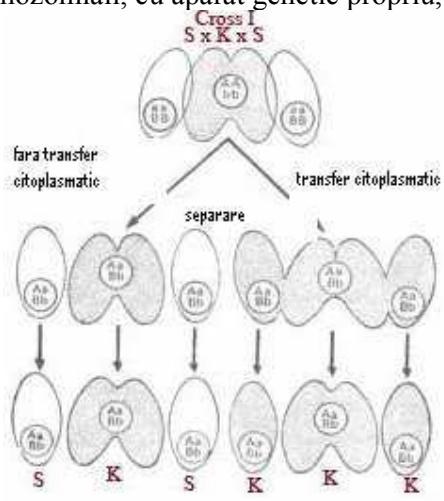


fig 8.1

La ciuperci, la care fenomenul eredităţii citoplasmatice este destul de des întâlnit, s-a reuşit, într-o serie de cazuri, inducerea artificială a unor mutante care se pot transmite pe cale extranucleară. La drojdia de bere apar frecvent mutante cu defecte de respiraţie, transmise prin mitocondrii. La Neurospora crassa au fost descrise mutatii care se moştenesc pe linie maternă, prin gene mitocondriale.

Influenţa genelor citoplasmei la nimale, carora le lipsesc plastidele, s-a pus în evidenţă la Lymantria dispar, la care plasma spermei şi ovulei se deosebeşte la diferite rase. În cazul în care diferenţele sunt mici sau lipsesc are loc o segregare obişnuită, mendeliană, a genelor; dacă însă deosebirile sunt mari, atunci citoplasma ovulei fecundată determină apariţia în proporţii excedentare a unor fenotipuri şi, deci, modificarea raporturilor normale de segregare (Goldschmidt şi col.,1924).

O serie de fenomene de ereditate extranucleară se datoresc prezenţei în citoplasma celulelor a particulelor simbiotice de tip infecţios (Kappa, Lambda, Miu etc.)de care s-a vorbit mai sus (fig. 8.1).

2. ANDROSTERILITATEA CITOPLASMATICĂ

Prin citoplasmă, la unele plante se transmite însuşirea de a fi lipsite de polen sau de a produce polen neviabil, steril, fenomenul fiind cunoscut sub numele de *androsterilitate*.

Fenomenul androsterilităţii a fost pus în evidenţă la Satureja hortensis de către C. Correns, în anul 1904, iar ulterior a fost relevat şi la porumb, iarbă de Sudan, sfeclă pentru zahăr ş.a. Caracterul respectiv se foloseşte pe scară largă în lucrări de hibridare, de exemplu la porumb, făcând inutilă operaţia costisitoare si pretenţioasă de castrare a florilor, în vederea obţinerii de hibrizi simpli sau dubli de porumb.

De fapt, androsterilitatea este o însuşire ereditară care se poate transmite prin factori ereditari recesivi localizaţi în nucleu, prin factori localizaţi în citoplasmă, ca şi prin factori din nucleu si din citoplasmă.

Androsterilitatea nucleară, observată la plante autogame, nu prezintă importanţă practică din cauza apariţiei descendenţilor sterili în proporţii mari şi, ca urmare, nu este folosită în procesul de producere a seminţelor hibride.

Androsterilitatea citoplasmatică este determinată de factori citoplasmatici S, care se comportă ca factori dominanţi faţă de factorul citoplasmatic de fertilitate Fal plantelor cu aceeaşi formulă genotipică. Prin polenizarea plantelor androsterile (S) cu polen de la plantele androfertile apar în F1 numai plante androsterile, deoarece citoplasma provine în întregime de la genul femel. Din aceste motive, androsterilitatea citoplasmatică are importanţă practică deosebită, folosindu-se cu mult succes în producerea seminţei hibride la porumb, sorg, sfeclă pentru zahăr, grâu, cartof ş.a. Recent s-a dovedit că genele pentru androsterilitate citoplasmatică nu sunt cloroplastice, cum s-a crezut un timp, ci gene mitocondriale al căror ADN a suferit alterări de structură şi funcţie.

La porumb, fenomenul androsterilităţii a fost descoperit de M.M. Rhoades (1933). Pentru stabilirea naturii factorilor citoplasmatici materni care provoacă androsterilitatea si a factorilor nucleari paterni, Rhoades a efectuat polenizarea repetată a plantelor androsterile cu polen de la o linie normală cu genom bine cunoscut. După mai multe generaţii de retroîncrucişare s-a realizat trensferul genomului celulei sexuale parentale în citoplasma celului sexuale materne. Înlocuirea genomului propriu cu genomul unei forme fertile nu a restabilit androsterilitatea, fapt care a confirmat că androsterilitatea este o însuşire cauzată de factori localizaţi în citoplasmă, care acţionează independent de factorii nucleari.

Androsterilitatea nucleară-citoplasmatică este determinată de factorul citoplasmatic *S* care se manifestă în prezenţa factorilor nucleari în stare recesivă *rr*. Plantele care conţin aceşti factori au posibilitatea de a releva atât fenomenul de androsterilitate, cât şi pe cel de restaurare a *fertilităţii*, ca urmare a faptului că în citoplasmă, pe lângă factorul de sterilitate *S*, deţin si factorul de fertilitate *F*, iar în nucleu intervin factorii dominanţi ai restaurării fertilităţii *RR*

3.CARACTERISTICILE EREDITĂŢII CITOPLASMATICE

În general, fenomenul eredităţii citoplasmatice se caracterizează prin:
-transmiterea caracterelor în alte proporţii decât cele mendeliene, şi anume în mod unparental, adică de la parintele care participă cu cea mai mare cantitate de citoplasmă;
-manifestarea în generaţia F1 a caracterelor materne, indiferent de constitiţia genetică a organismelor respective;
-lipsa fenomenului de linkage şi, ca urmare, imposibilitatea întocmirii hărţilor cromozomale (la Sacharomyces, Neurospora ş.a. s-a demonstrat totuşi linkajul genelor citoplasmatice, ca şi recombinarea lor);
-manifestarea unor caractere fenotipice depinzând de constitiţia genotipică a organismului matern, independent de genotipul propriu;
-posibilitatea apariţiei mutaţiilor spontane sau induse artificial la genele extranucleare.
În afara modelului transmiterii stricte a genelor extranucleare pe cale maternă, pus în evidenţă la porumb, şi la marea majoritate a plantelor analizate, s-a descris şi un model al transmiterii biparentale, dar în raporturi de segregare aberante, nemendeliene, a genelor citoplasmatice, ca la genurile Oenothera şi Pelargonium.

Rezumat: Cazuri de ereditate citoplasmatică; Androsterilitatea citoplasmatică; Caracteristicile eredităţii citoplasmatice

Test de autocontrol:

42.	Ereditatea citoplasmatica este asigurata de gene plasate la nivelul:	a) mitocondriilor si plastidelor
		b) ribozomilor si reticul endoplasmatic
		c) nucleului
43.	Ereditatea citoplasmatica se realizeaza :	a) pe linie paterna
		b) pe linie materna
		c) pe linie paterna si materna
44.	Androsterilitatea poate fi inteleasa ca fiind:	a) procesul de formare al polenului
		b) incapacitatea de a produce polen sau capacitatea de a produce polen steril
45.	Utilizarea androsterilitatii in lucrarile de hibridare duce la eliminarea:	a) lucrarii de polenizare a formei mama
		b) lucrarii de purificare
		c) lucrarii de castrare a formei mama

CAPITOLUL IX

BAZELE BIOCHIMICE ALE EREDITĂȚII

1. IDENTIFICAREA MATERIALULUI GENETIC

Toate cercetările efectuate la începutul secolului, legate în primul rând de transmiterea carcterelor, nu au condus la identificarea unei substanțe care să fie răspunzătoare de toate aceste procese. Descoperite din biochimie au venit însă în ajutorul cercetărilor de genetică. Astfel, cercetătorii au ajuns la concluzia că pentru a putea fi numită material genetic, o substanță trebuie să îndeplinească trei condiții metabolice esențiale:

- să poarte toate informațiile necesare organizării structurale şi funcționării metabolice a celulei şi organismului;
- să se replice în modul cel mai corect, astfel încât şi celulele iice să conțină aceeaşi informație, precum celula mamă din care a provenit;
- să poată suferi ocazional mutații (modificări) care, apoi, să poată fi transmise la urmaşi.

Prin imensa lor diversitate şi prin faptul că se află alături de acizii nucleici în compoziția cromozomilor, moleculele proteice au atras atenția cercetătorilor, care au fost tentați să creadă că ele reprezintă materialul genetic. Pe de altă parte, experiențele de transformare genetică au condus la concluzia că **acidul dezoxiribonucleic** (ADN) poate fi considerat ca fiind material genetic.

2. ADN - MATERIAL GENETIC LA PROCARIOTE ŞI EUCARIOTE

ADN fusese descoperit, ca substanță chimică, cu mult timp înaintea experimentelor de transformare genetică. În 1869, Friedriech Miescher, l-a identificat ca fiind prezent în nucleii lapților de somn, şi l-a denumit nucleină. Mai târziu, în 1914, Robert Feulgen a observat că poate fi pus în evidență prin colorare cu fucsină bazică. În 1920, P.A. Levene, în urma unui studiu chimic a descoperit că în compoziția AND-ului intră patru baze azotate: **adenină (A), guanină (G), citozină (C), timină (T),** un **zahar (2-deoxiriboza)** şi **o grupare fosfat – nucleotidă**. Cele patru baze azotate sunt de două tipuri: **purinice (A şi G)** şi **pirimidinice (C** şi **T)**.

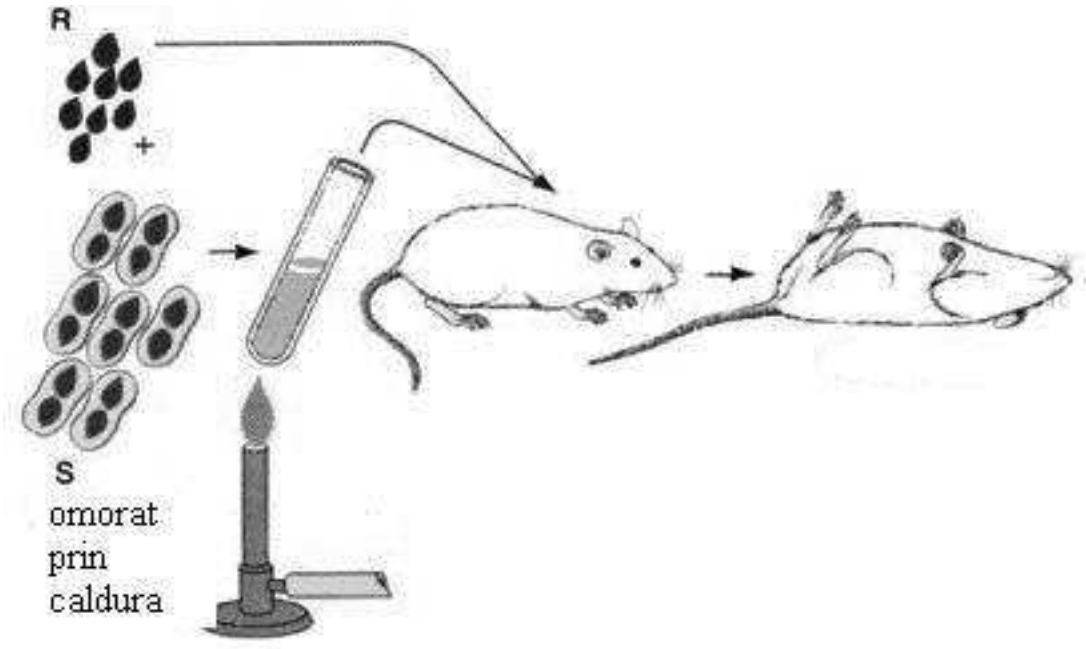
Tot la începutul secolului, în încercarea de a identifica naura şi cauzele diverselor boli, au început experimentele de transformare genetică.

La mamifere, pneumonia bacteriană este cauzată de *Streptococcus pneumoniae*, care este capabilă să se protejeze împotriva mecanismului de apărare al animalului infectat prin sintetizarea unei capsule polizaharidice. Această bacterie poate fi crescută pe mediu de cultură artificial şi formează colonii care, datorită capsulei, au aspectul neted. Alături de această tulpină, a mai fost

identificată o alta, care însă, pentru că nu poate forma capsule protectoare, nu poate face față mecanismului de protecție a animalului infectat şi, în consecință, nu produce boala. Pe mediul de cultură artificial, această tulpină, formează colonii de tip rugos. În concordanță cu aspectul coloniilor, cele două tulpini au fost denumite "tipul S" (de la termenul englezesc smooth = neted şi "tipul R" rough = rugos).

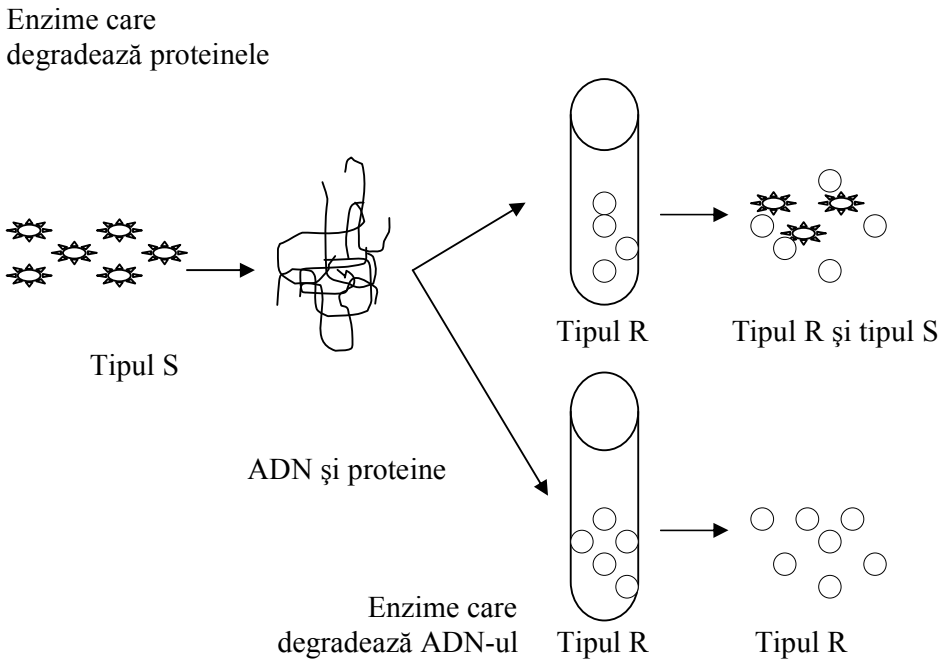
În anul 1920, Frederick Griffith a injectat tulpina R în două variante – activă şi omorâtă prin căldură – la şoareci. Efectul? Nul. Ceea ce era de aşteptat, date fiind particularitățile acestei tulpini. În schimb, injectarea unui amestec format din bacterii R active şi bacterii S omorâte prin căldură, a provocat pneumonie cu o frecvență notabilă. Evident, într-un anume fel, bacteriile de tip R, inițial inactive, au devenit active în amestec cu cele de tip S inactive. În acel moment, Griffith nu a putut explica rezultatele experimentului său, cunoscut drept "experimentul Griffith" decât afirmând că există un **factor transformator** care a determinat schimbarea proprietăților tulpinii bacteriene şi, în final, moartea şoarecilor de penumonie.

Fig. 9. 1. Schema experiențelor lui F.Griffith



În 1944, Oswald Avery a reluat experimentul lui Griffith, dar a eliminat din el şoarecii, pentru a evidenția faptul că aceştia nu au avut nici un rol în transformarea bacteriilor. El a cultivat bacterii de tip S şi a extras din celulele acestora ADN. Extractul obținut – de fapt, un amestec de ADN şi proteine contaminate – a fost supus la două tratamente diferite (vezi figura 9. 2.) şi a fost folosit pentru tratarea unor culturi de celule de tip R. S-a constatat că în cazul degradării ADN din amestec, tipul R nu a suferit nici o modificare (transformare). În schimb, atunci când au fost degradate proteinele, s-a obținut un amestec de celule de tip R şi celule tip S. Acest experiment a demonstrat că factorul transformator şi, implicit, materialul genetic, este **ADN**.

Fig. 9. 2. Diagrama experimentului prin care s-a demonstrat că ADN şi nu proteinele reprezintă materialul genetic



Acest experiment a fost acceptat de către întreaga lume ştiinţifică drept dovada finală a faptului că **ADN constituie materialul genetic**. Mai târziu, a fost evidenţiat faptul că, la unele virusuri – numite, nu întâmplător, ribovirusuri – ARN este materialul genetic.

3. ARN – MATERIAL GENETIC LA RIBOVIRUSURI ŞI VIROIZI

Există o anumită categorie de virusuri care nu conţin ADN, ci doar ARN şi proteine. Această categorie include **ribovirusurile**. Din ea fac parte virusul mozaicului tutunului (TMV), virusul poliomelitei, virusul gripal, virusul imunodeficitar (HIV), virusul encefalitei etc.

În 1955 – 1956, două echipe de cercetători (Frankel Conrat şi Williams în S.U.A., Gierer şi Schram în Germania), în paralel, au demonstrat că la TMV transformarea genetică este realizată de către ARN.

Viroizii sunt organisme acelulare care, spre deosebire de virusuri, nu au decât o moleculă de ARN de dimensiuni foarte reduse, care stochează informaţia genetică şi este capabilă de multiplicare în celula gazdă, iar apoi, de infectarea altor celule.

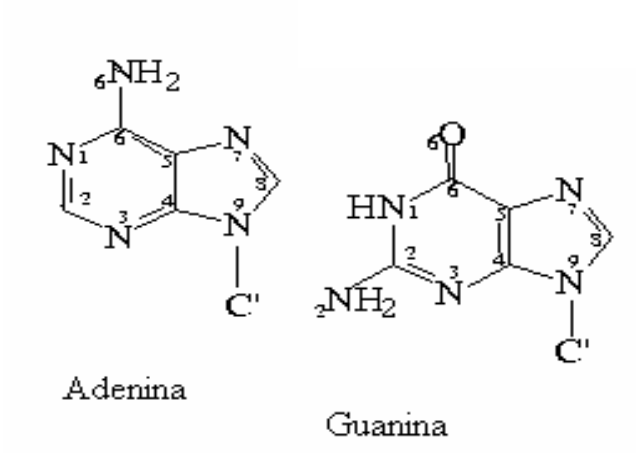
4. COMPOZIŢIA CHIMICĂ A ACIZILOR NUCLEICI

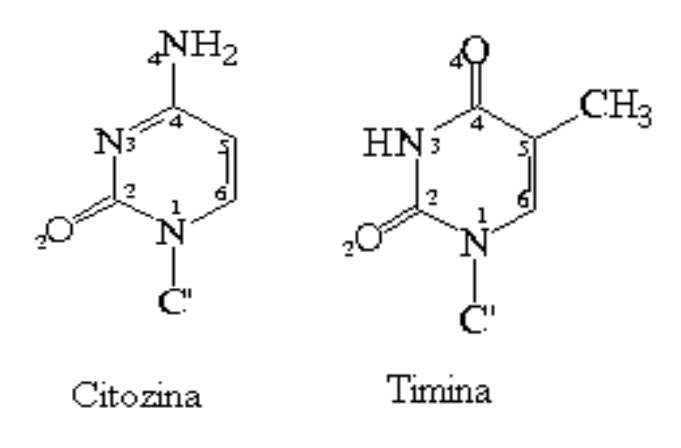
Acizii nucleici sunt, **polimeri** (molecule mari, alcătuite din unităţi repetabile de n ori). În compoziţia lor intră trei categorii de substanţe: bazele azotate, o pentoză şi un radical fosfat.

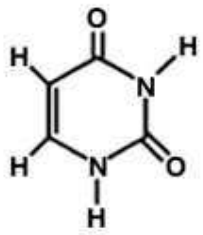
Bazele azotate (vezi figura 9. 3.) care intră în compoziţia acizilor nucleici sunt grupate în două categorii: **purinice**, adică adenina (A) şi guanina (G) şi **pirimidinice**, adică timina (T), citozina (C) şi uracilul (U). În compoziţia ADN intră cele două baze purinice (A şi G) şi două dintre bazele pirimidinice, mai precis, T şi C. În compoziţia ARN, intră aceleaşi baze purinice (A şi G), iar dintre

bazele pirimidinice - T şi U -. Atomii de carbon şi azot din bazele azotate sunt numerotați de la 1 la 9 pentru purine şi, respectiv de la 1 la 6 pentru pirimidine.

Fig.9. 3. Bazele azotate : purinice şi pirimidinice



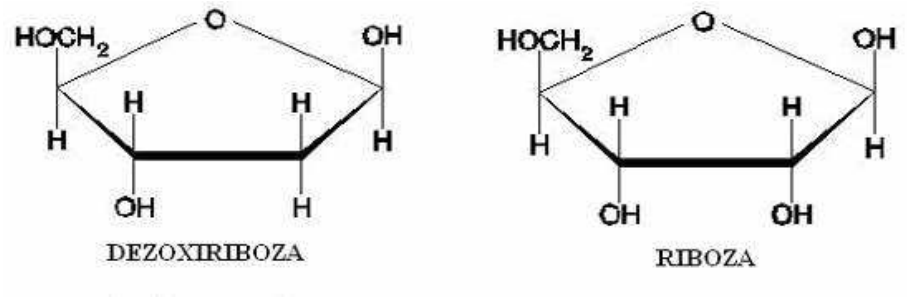




Uracil (înlocuieşte Timina în ARN)

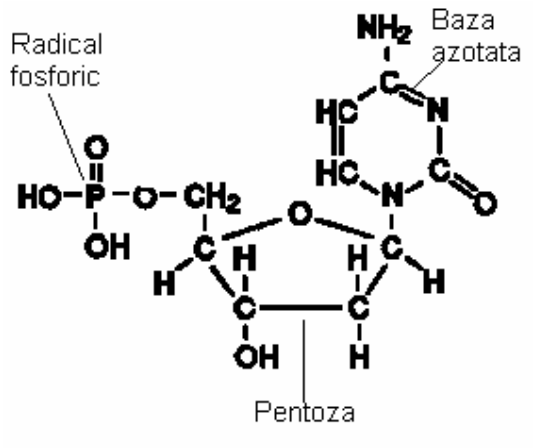
Pentozele (vezi figura 9. 4.) sunt **2-dezoxiriboza** în ADN şi **riboza** în ARN, iar atomii lor de carbon sunt numerotați de la 1' la 5'.

Fig. 9. 4. Pentoze



Baza azotată se leagă de pentoză şi formează un **nucleosid**. Prin adăugarea unui radical fosfat la atomul de carbon 5' al pentozei se formează o **nucleotidă** (vezi figura9. 5.). Nucleotida reprezintă unitatea de bază a acizilor nucleici. Polimerizarea nucleotidelor are ca rezultat **catena polinucleotidică**, sau structura primară a acizilor nucleici.

Fig.9. 5. Structura unei nucleotide



Polimerizarea presupune adăugarea de nucleotide, una după alta, în următoarea configuraţie: la prima nucleotidă, mai precis la atomul de carbon 3', unde există o gurpare HO^-, se ataşază următoarea nucleotidă cu radicalul său fosfat. Aceasta din urmă cedează un H^+ care, împreună cu HO^-, formează H_2O, iar cele două nucleotide rămân unite print-o legătură covalentă de tipul fosfodiester. La fel se întâmplă şi cu celelalte nucleotide. De regulă, catena care conţine până la 10 nucleotide poartă numele de **oligonucleotidă**, iar cea care conţine mai mult de 10 nucleotide se numeşte **polinucleotidă**. Dacă, la finalul polimerizării se analizează catena formată, se observă că prima nucleotidă are atomul de carbon 5' cu radicalul fosfat liber, iar ultima nucleotidă are atomul de carbon 3' cu radicalul HO^- liber. Se poate spune deci că există o orientare de tipul 5' – 3', în catena polinucleotidă de ADN şi, respectiv, ARN.

5. STRUCTURA FIZICĂ A ACIZILOR NUCLEICI

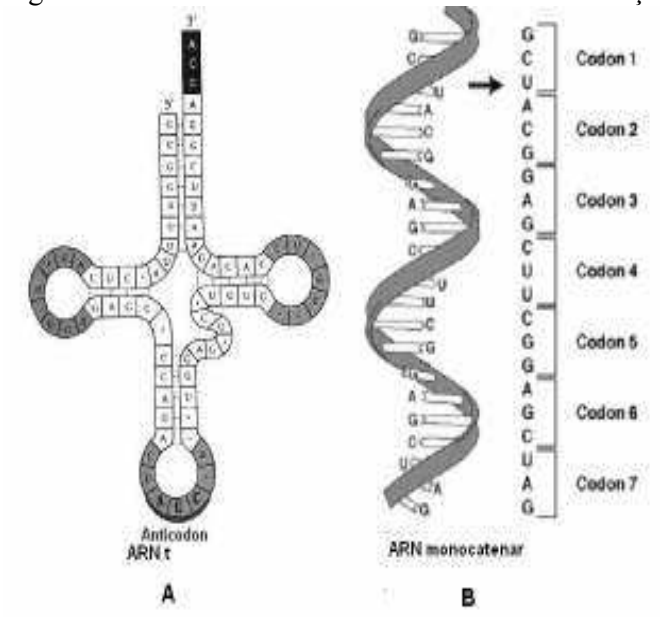
Dacă din punct de vedere chimic cele două tipuri de acizi nucleici nu diferă foarte mult unul de altul, din punct de vedere al structurii fizice există foarte multe deosebiri.

Cea mai simplă structură o are molecula de ARN care, de fapt, nu este alcătuită decât dintr-o singură catenă polinucleotidică, având orientarea 5' 3'. În celulă, există însă mai multe tipuri

de ARN, fiecare cu rolul său. În consecință, catena polinucleotidică capătă diferite structuri secundare, în funcție de tipul de ARN din care face parte.

De exemplu, ARN mesager (ARNm) se prezintă sub formă monocatenară. În schimb, ARN de transport (ARNt), datorită funcțiilor sale, posedă secvențe de baze azotate interne complementare, ceea ce determină formarea unor scurte regiuni dublucatenare, fapt care conduce la împachetarea catenei într-o structură de tipul unei frunze de trifoi (vezi figura 9. 6.). Cele trei zone monocatenare contribuie la realizarea funcțiilor ARNt, funcții ce vor fi detaliate în capitolul legat de expresia genelor şi sinteza proteinelor.

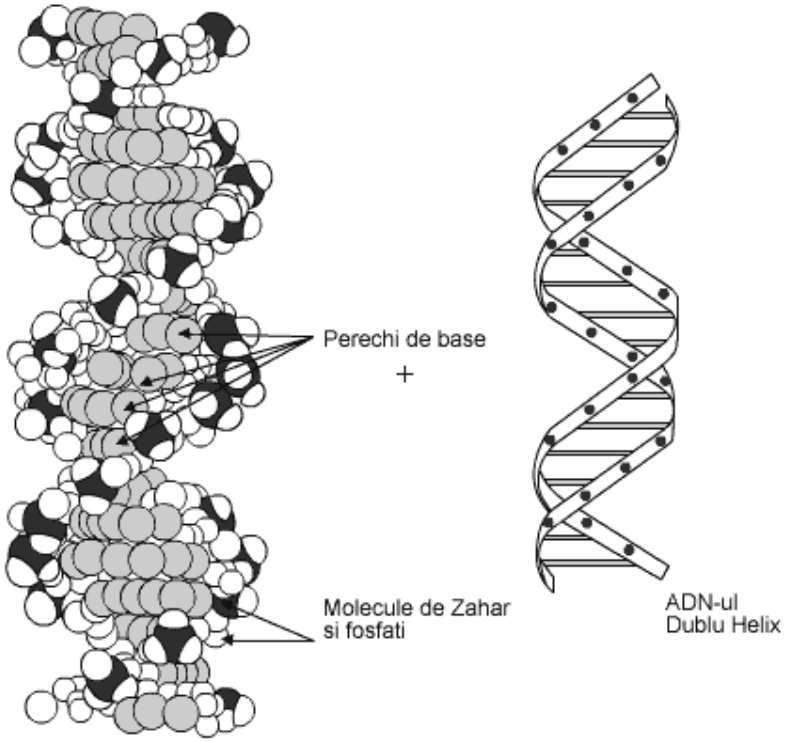
Fig.9. 6. Structura acidului ribonucleic : A= ARN t şi B= ARN monocatenar



Structura fizică a ADN este însă mult mai complexă, iar J. Watson şi F. Crick care au descoperit-o în 1953, au primit premiul Nobel. Folosind difracția cu raze X, cei doi cercetători au ajuns la câteva concluzii importante:

1. ADN este format din două catene, înfăşurate, mai întâi, una în jurul celeilalte şi apoi, ambele în jurul unui ax comun. ADN este deci, un dublu helix (vezi figura 9. Â7.). Distanța dintre două nucleotide alăturate este de 3,4 Å, iar dintre două bucle ale aceleiaşi catene de 3,4 Å (10 nucleotide per buclă). În cadrul helixului, la interior sunt plasate bazele azotate, iar la exterior, pentoza şi radicalul fosfat.

Fig. 9. 7. Structura secundară a ADN

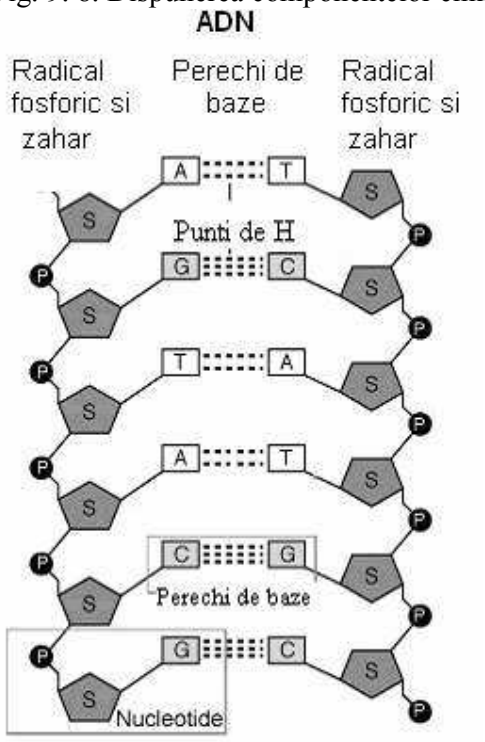


2. Cele două catene sunt legate între ele prin legături de hidrogen şi sunt complementare. Aceasta însemnă că dacă pe una dintre ele se află adenina, pe cealaltă catenă, la aceeaşi poziţie, se află timina, iar dacă pe una este guanina, pe cealaltă va fi citozina. Şi viceversa. Rezultă, deci, că în ADN există doar patru legături posibile: A = T, T = A, G ≡ C, C ≡ G (două legături de hidrogen între A şi T şi trei legături de hidrogen între G şi C) (vezi figura 9.8.). Această structură complementară a catenelor din ADN a fost dedusă pe baza regulii lui Cargaff: [A] = [T], [C] = [G].

3. În sfârşit, cele două catene de ADN sunt antiparalele, fiind orientate în direcţii opuse. La acelaşi capăt al moleculei de ADN, una dintre catene are carbonul 5' – P, iar cealaltă carbonul 3' – OH.

Aceasta este structura fizică a ADN în condiţii normale. Dar, deoarece legăturile dintre cele două catene sunt foarte slabe, la creşterea temperaturii se pot rupe foarte uşor. În consecinţă, supunerea unei soluţii de ADN bicatenar la o temperatură ridicată determină transformarea acestuia în ADN monocatenar. Fenomenul poartă numele de **denaturare**. Dacă răcirea soluţiei se face lent, ADN revine la starea bicatenară, fenomenul fiind numit **renaturare**. Ce se va întâmpla însă dacă, în soluţie, va fi adăugat un alt fragment de ADN monocatenar? Acesta din urmă se va ataşa, pe bază de complementaritate, la catenele aflate iniţial în soluţie, rezultând **hibrizi moleculari** de tipul ADN – ADN exogen. Datorită faptului că, la nivel chimic, ADN şi ARN sunt similare, se pot obţine hibrizi moleculari de tipul ADN – ARN. Evident, cu condiţia ca în soluţia de ADN denaturat să se adauge ARN complementar.

Fig. 9. 8. Dispunerea componentelor chimice ale ADN în cadrul structurii sale secundare



6. REPLICAȚIA ADN (SINTEZA ADN)

O condiție esențială ce trebuie îndeplinită de către o substanță pentru a putea fi numită material genetic este aceea de a se multiplica (replica) cu cea mai mare fidelitate, astfel încât, în procesul de diviziune celulară, celulele fiice să conțină aceeaşi informație genetică ca şi celula mamă din care au provenit.

În momentul în care au propus structura fizică bicatenară a ADN, Watson şi Crick au propus şi modelul de replicare a acestuia: cele două catene ale celulei mamă sunt folosite ca matrițe pentru sinteza altor două catene, fiice. Moleculele de ADN din nou formate vor avea câte o catenă veche provenită de la celula mamă (matrița) şi o catenă nou sintetizată. Acest mod de replicare poartă numele de replicare semiconservativă şi a fost demonstrat experimental de către cercetătorii Mathews Meselson şi Franklin Stahl, în 1958, utilizând izotopul greu al azotului (N^{15}) şi separând moleculele de ADN cu greutăți diferite prin centrifugare în gradient de densitate.

Replicarea ADN este un proces biochimic complex la care participă un întreg aparat enzimatic. Din cadrul acestuia fac parte:

- **ADN helicazele** – enzime care se leagă de ADN-ul bicatenar, determină separarea celor două catene complementare şi formarea "furcii de replicare";
- **SSD (single stranded DNA)** – proteine care se leagă de ADN -ul bicatenar sub formă de tetrameri şi măresc viteza de replicare;
- **ADN girazele** – permit desfacerea celor două catene la nivelul "furcii de replicare";
- **Primaza** (un tip de ARN polimeraza) – sintetizează o scurtă secvență de ARN – **primer** - prin ataşarea de nucleotide la catena matriță, pe bază de complementaritate;
- **ADN polimerazele: Pol III – funcția de elongare** (polimerizare) 5' 3' şi **Pol I** cu funcțiile: 5' 3' → elongare; 5' 3' – exonucleazică; 3' 5' – exonucleazică (corectare); → →

- **ADN ligazele** – formează legături covalente între C5' şi C3' ale celor două nucleotide alăturate.

Din punct de vedere chimic, sinteza ADN este, de fapt, o reacție de polimerizare. Şi, pentru că este o reacție biochimică, trebuie să fie catalizată de către o enzimă: **ADN polimeraza**.

$$H\text{-}P\text{-}P\text{-}P\text{-}N_n - OH + H\text{-}P\text{-}P\text{-}P\text{-}N_x\text{-}OH \xrightarrow{\text{ADNpolimeraza}} N_{n+1} + H_2O + PP$$

Pentru a realiza sinteza ADN, enzima ADN-polimeraza are nevoie de:

- prezența nucleotidelor sub formă de trifosfați: dATP, dGTP, dCTP, dTTP; absența uneia dintre acestea sau modificarea radicalilor de la atomii implicați în polimerizare (C5' şi C3') conduce la astoparea procesului;
- Prezența unei catene ce poate fi folosită ca matriță; aceasta va determina, de fapt ordinea bazelor azotate din noua catenă;
- Prezența unei scurte secvențe de nucleotide (ADN sau ARN), numită **primer**, care să poată oferi capătul C3'-OH necesar formării legăturii covalente; cu alte cuvinte, ADN polimeraza nu poate iniția sinteza unei catene de ADN *de novo*.

Deoarece ADN polimeraza poate adăuga nucleotide doar la capătul 3'-OH, rezultă că sinteza noii catene este orientată Intotdeauna în direcția 5'3' (prima nucleotidă are capătul 5' liber, iar ultima are capătul 3' liber). În acelaşi timp, pentru că cele două catene mamă sunt antiparalele, este necesar ca şi catenele fiice să fie antiparalele. Acest fapt complică mecanismul de replicare a ADN. Mai precis, pentru a se îndeplini toate condițiile, replicarea trebuie să fie **semidiscontinuă**: o catenă fiică este sintetizată continuu, iar cealaltă – discontinu, sub forma unor fragmente mici de ADN care, apoi, sunt reunite (vezi figura 9. 9.).

6. 1. ETAPELE PROCESULUI DE SINTEZĂ ADN

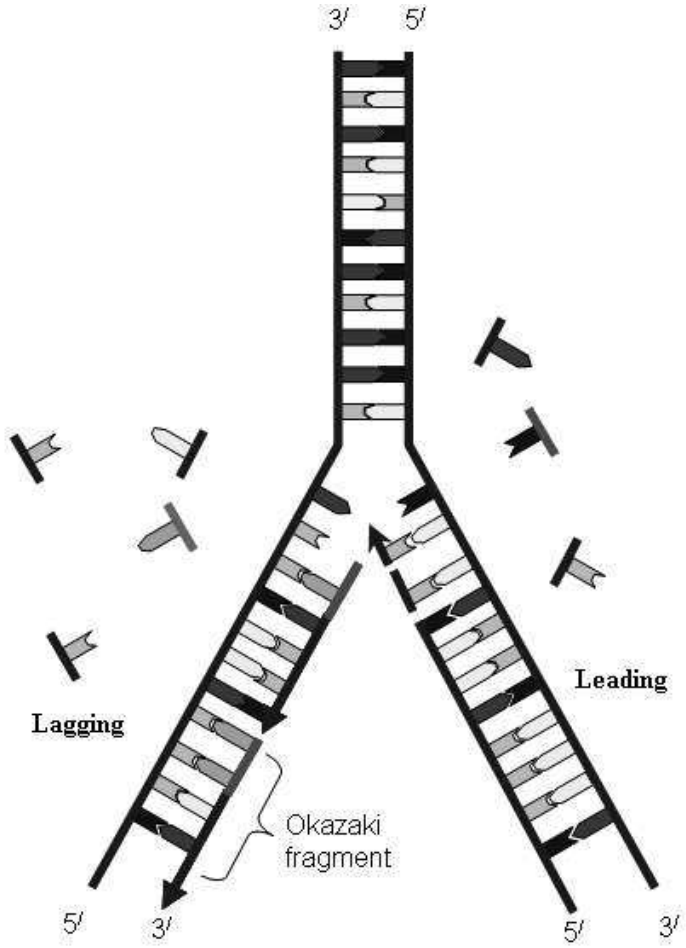
1. **ADN-helicazele** se ataşază la molecula de ADN bicatenară, la o anumită secvență de baze azotate numită **originea replicării** (**ORI**) şi desfac cele două catene legate prin legături de hidrogen. Se formează de-a lungul moleculei o zonă monocatenară sub forma unei bucle care, pe măsură ce helicazele înaintează într-o direcție sau alta se lărgeşte din ce în ce mai mult.

2. Pentru a menține starea monocatenară necesară replicării, **proteinele SSD** (single stranded-DNA) se ataşează la cele două catene sub formă de octameri.

3. **Primazele**, având la dispoziție nucleotidele sub formă de trifosfați (dATP, dCTP, dGTP, dUTP), încep să le ataşeze la catenele matriță, pe bază de complementaritate, sintetizând un fragment scurt de ARN (50-75 nucleotide), numit **primer**. Reținem că, datorită orientării antiparalele a celor două catene matriță, primerii trebuie să fie şi ei antiparaleli.

4. **ADN – polimeraza III** (**POL III**), având la dispoziție capătul 3'-OH de la fiecare primer începe să adauge la acesta noi nucleotide. Helicazele înaintează de-a lungul ADN-ului separând din ce în ce mai mult cele două catene iar, în urma lor, vine Pol II care îşi realizează funcția polimerazică: adăugarea de nucleotide la capătul 3'-OH utilizând ca matriță vechea catenă de ADN. Este important de reținut că, datorită orientării antiparalele a celor două catene matriță şi, datorită faptului că, datorită orientării antiparalele a celor două catene matriță şi, datorită faptului că sinteza de ADN are loc doar în direcția 5' 3',una dintre catenele fiice, şi anume cea care înaintează în aceeaşi direcție 5'⟶ 3', se va sintetiza continuu (**catena conducătoare – leading**), pe când cealaltă, fiind antiparalelă, se va sintetiza discontinuu (**catena lagging**), sub formă de fragmente scurte, denumite **fragmentele Okazaki**. Deoarece viteza de replicare este foarte mare, din când în când, Pol III integrează greşit nucleotidele în catena fiică (de exemplu A în loc de C). În acest caz, intervine enzima **ADN – polimeraza I** (**Pol I**) care, datorită funcției sale exonucleazice în direcția

3’-5’, denumită şi cea de **corectură** (**proofreading**), îndepărtează nucleotida greşit încorporată, iar Pol III îşi reia activarea de la acel punct.
Fig. 9. 9. Sinteza ADN

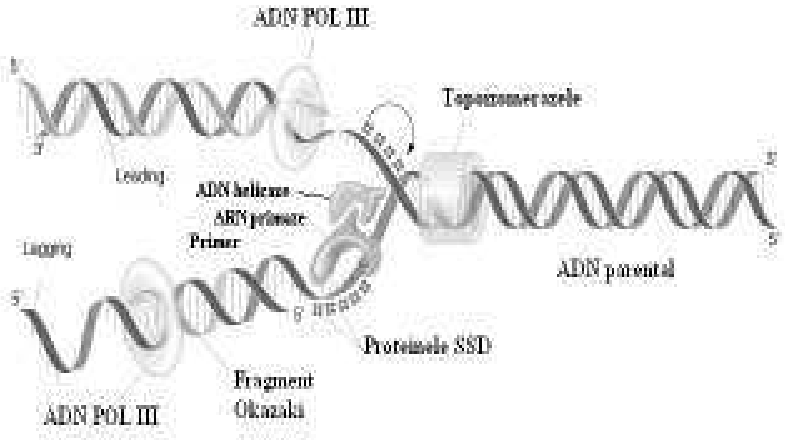


5. Atât catena continuă, cât şi cea discontinuă, au la capătul 5’ primerul ARN sintetizat de primaze. Acesta trebuie îndepărtat, funcție realizată tot de către Pol I prin domeniul său exonucleazic în direcția 5’ →3’.

6. Pe catena discontinuă, prin eliminarea primerilor ARN ramân porţiuni din catena matriță nefolosite pentru replicare (goluri). Acestea sunt umplute de către Pol I prin funcția sa polimerazică .

7. Fragmentele Okazaki sunt unite cu ajutorul enzimei ADN-ligaza care formează legătura covalentă între C5’al unui fragment şi C3' al urmatorului fragment.

Fig.9. 10. Etapele sintezei ADN

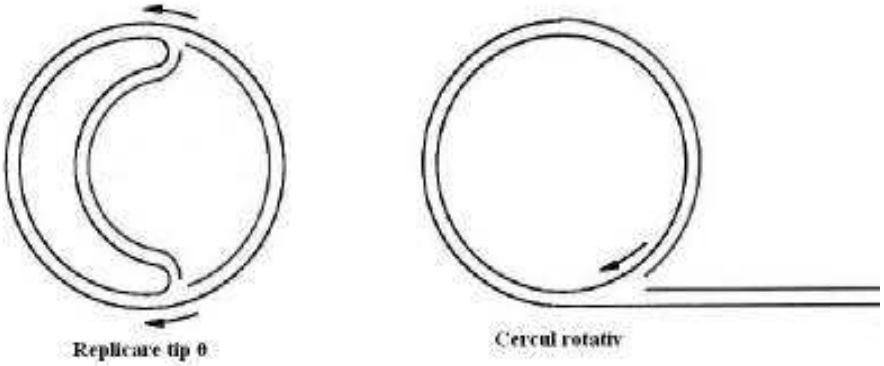


7. REPLICAȚIA ADN LA PROCARIOTE ŞI EUCARIOTE

Majoritarea organismelor procariote posedă ADN dispus în formă circulară, ceea ce complică oarecum procesul de replicare, ținând cont de faptul că ADN este un dublu helix. Replicarea acestuia începe dintr-un singur punct (ORI) şi înaintează în ambele direcții -**replicare bidirecțională.**

La *E.coli* a fost demonstrat prin autoradiografiere că replicarea cromozomului său are loc tot circular, acesta luând forma literei greceşti **theta** (θ) **- replicarea tip θ** (vezi figura 8. 10.). La ORI, cele două catene se desfac, furca de replicare înaintează în ambele direcții şi, pentru a evita suprarăsucirea şi tensionarea celor două catene la polul opus lui ORI, enzimele numite **topoizomeraze** crează tăieturi în una din cele două catene, aceasta se răsuceşte, iar tensiunea este eliminată.

Fig. 9. 11. Replicare de tip **θ** şi cercul rotativ



Anumite virusuri cu ADN-ul circular, datorită faptului că au nevoie de un număr foarte mare de copii ale acestuia, au adoptat o altă strategie de replicare a cromozomului lor. Modelul lor de replicare poartă numele de **cercul rotativ** şi este prezentat în figură. Una dintre cele două catene este tăiată la ORI şi se crează cele două capete: unul 5' cu P şi celălalt cu 3'-OH.

Având la dispoziție capătul 3'-OH, enzima ADN polimeraza începe să adauge noi nucleotide folosind ca matriță catena netăiată, circulară. Prin adăugare de nucleotide la capătul 3', capătul 5' este împins înainte fapt care conduce implicit, la rotirea catenei din interior (cercul rotativ). De cele mai multe ori, prin rotirea catenei din interior se formează lanțuri lungi de ADN bicatenare cuprinzând mai multe copii ale ADN-ului inițial. În final, enzimele vor tăia acest lanț în fragmentele corespunzătoare fiecărui cromozom, acestea se unesc şi sunt identice cu ADN-ul circular pe baza căruia au fost sintetizate.

La eucariote, ADN-ul este liniar, deci replicarea decurge în mod normal. Datorită lungimii foarte mari a cromozomilor eucariotelor şi vitezei mari de replicare a acestora, este necesar ca procesul să înceapă în mai multe puncte, mai multe ORI, de la fiecare dintre acestea, furca de replicare înaintând în ambele direcții (replicare bidirecțională).

8. CODUL GENETIC ŞI CARACTERISTICILE SALE

Aşa cum am văzut, doar patru baze azotate sunt necesare pentru a determina ordinea celor douăzeci de aminoacizi dintr-o catena polipeptidică. Acest fapt este posibil deoarece o anumită combinație de trei baze azotate adiacente este utilizată pentru introducerea unui anumit aminoacid. Această secvență de trei baze azotate poartă numele de codon, iar totalitatea codonilor alcatuieşte codul genetic (vezi tabelul).

Înainte de a fi determinată experimental, existența codului genetic sub formă de triplet a fost dovedită matematic. Astfel, dacă o singură bază azotată ar fi codificat un aminoacid, atunci ar exista doar patru aminoacizi, dacă doua baze azotate ar codifica un aminoacid, atunci $4^2 = 16$ aminoacizi posibili, în fine, dacă trei baze azotate codifică un aminoacid, atunci $4^3 = 64$. Deşi nu există 64 de aminoacizi ci doar 20, 61 dintre cei 64 codifică integrarea aminoacizilor, ceea ce înseamnă ca mai mulți codoni vor determină includerea aceluiaşi aminoacid în catena polipeptidică.

Prima dovadă acceptată drept evidență a codului genetic sub formă de tripleți a fost reprezentată de experimentul de inserare şi deleție a anumitor baze azotate dintr-o secvență codificaroare. În procesul de translație bazele azotate sunt citite secvențial, codon după codon, orice bază azotată inserată sau deletată duce la modificarea întregului cadru de citire şi, în consecință la modificarea catenei polipeptidice inserate. Vorbim deci, de aşa-numitul cadru de citire**.** Mutațiile acestuia (deleții, inserții de baze azotate) din experimentele de translație efectuate *in vitro* au dovedit că fiecare aminoacid din catena polipeptidică este codificat de către o tripletă de baze azotate - **un codon.**

a IIa BAZA

I BAZA	U	C	A	G	aIIIa BAZA
U	Phe Phe Leu Leu	Ser Ser Ser Ser	Tyr Tyr STOP STOP	Cys Cys STOP Trp	U C A G
C	Leu Leu Leu Leu	Pro Pro Pro Pro	His His Gln Gln	Arg Arg Arg Arg	U C A G
A	Ile Ile Ile Met	Thr Thr Thr Thr	Asn Asn Lys Lys	Ser Ser Arg Arg	U C A G
G	Val Val Val Val	Ala Ala Ala Ala	Asp Asp Glu Glu	Gly Gly Gly Gly	U C A G

CODUL GENETIC

O altă caracteristică extrem de importantă a codului genetic o reprezintă **degenerarea** sa. Se observă în tabel ca toți aminoacizii, cu excepția metioninei şi triptofanului, sunt codificați de cel puțin doi codoni. Dacă analizăm structura bazelor azotate ce intră în componența codonilor care codifică acelaşi aminoacid, observăm că prima şi cea de a doua sunt aceleaşi pentru toți (excepție face leucina la care se poate schimba şi cea de a doua bază). Cea care se schimbă este baza azotată numărul 3 care mai poartă numele şi de **poziția labilă.** Raționamentul existenței bazei labile este unul de natură energetică: sinteza proteică trebuie să decurgă cu viteză foarte mare, iar formarea celor trei legături de hidrogen între codon şi anticodon necesită timp şi energie mai multă, comparativ cu formarea doar a două legaturi.

Cea mai importantă caracteristică a codului genetic o reprezintă **universalitatea** sa. Indiferent de natura sau de gradul de evoluție al organismului pe care îl analizăm, aceeaşi tripletă de baze azotate codifică acelaşi aminoacid. Prin urmare, codul genetic are o origine foarte veche, la începutul existenței primelor organisme.

Rezumat: Identificarea materialului genetic; ADN – material genetic la procariote si eucariote; ARN – material genetic la ribovirusuri si viroizi; Compozitia chimică a acizilor nucleici; Structura fizică a acizilor nucleici; Replicația ADN (sinteza ADN); Etapele procwesului de sinteză ADN; Replicația ADN la procariote si eucariot; Codul genetic şi caracteristicile sale

Test autocontrol:

46.	O nucleotide este alcatuita din:	a) o baza azotata, un zahar si un radical fosforic
		b) o baza azotata si un zahar
		c) o baza azotatat si un radical fosforic
47.	Ribovirusurile prezinta ca material genetic:	a) ADN
		b) proteine
		c) ARN
48.	Bazele azotate ce intra in alcatuirea AND sunt:	a) A,G,C,T
		b) A,G,C,U
		c) A,G,C
49.	Complementaritatea catenelor de AND se refera la legaturi de tip:	a) A-G si C-T
		b) A-U si C-G
		c) A-T si G-C
50.	O solutie de AND supusa la temperaturi ridicate duce la separarea catenelor, proces denumit:	a) degenerare
		b) denaturare
		c) degivrare
51.	UN codon reprezinta:	a) o baza azotata
		b) un triplet de baze azotate
		c) o baza azotata si un zahar

CAPITOLUL X

SINTEZA PROTEICĂ

1. ROLUL GENETIC AL ACIZILOR NUCLEICI

Pentru a putea fi considerată material genetic, o substanţă trebuie să asigure funcţionarea structurală şi metabolică a celulei. În acest capitol vom vedea cum răspunde ADN la această cerinţă.

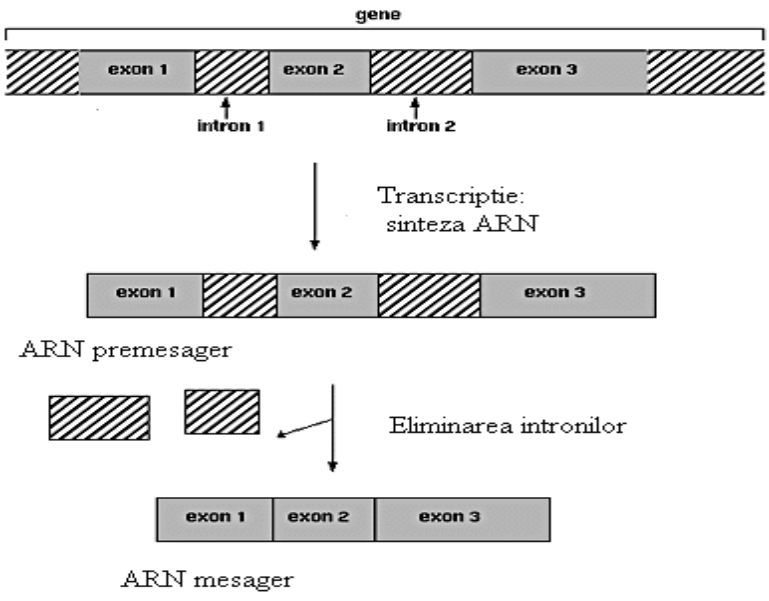
Proteinele sunt moleculele responsabile de catalizarea celor mai multe reacţii biochimice (enzimele), de reglarea expresiei genelor (proteinele reglatoare) şi de determinarea structurii celulelor, ţesuturilor şi virusurilor (proteinele structurale). În consecinţă, o substanţă, numită material genetic, trebuie, într-un anumit mod, să determine sinteza tuturor acestor tipuri de proteine. Proteinele sunt alcătuite din mai multe catene polipeptidice, în care unităţile de bază sunt aminoacizii. Cei 20 de aminoacizi esenţiali pot fi aranjaţi în orice număr şi orice ordine, asigurându-se astfel imensa diversitate a moleculelor proteice.

Fiecare aminoacid conţine un atom de carbon la care se ataşează gruparea COOH, gruparea NH_2- şi o catenă secundară R. Legătura dintre doi aminoacizi se formează între COOH- de la primul aminoacid şi NH_2- de la următorul aminoacid. Rezultatul: o legatură peptidică. Prin urmare, o catena polipeptidică posedă o grupare terminală de tipul NH_2- la un capăt şi COOH- la celălalt capăt.

În gene, respectiv in ADN, se găseşte informaţia necesară sintezei proteinelor. O secvenţă de nucleotide din ADN determină o anumită secvenţă de aminoacizi în catena polipeptidică. Acest atribut al genelor şi polipeptidelor poartă numele de **colinearitate**. Colinearitatea este caracteristică procariotelor. La eucariote, există însă şi ADN noninformaţional, care întrerupe continuitatea informaţiei pentru majoritatea genelor(vezi figura10 1.).

Deoarece ADN nu părăseşte niciodată nucleul, iar sinteza proteinelor are loc în citoplasmă, între cele două substanţe se interpune ARN mesager (ARNm) care are rolul de a copia informaţia genetică din AND (**transcripţie**) pentru a o traduce apoi, la nivelul ribozomilor, în catene polipeptidice (**translaţie**).

Fig. 10 1. Transcripţia la eucariote



Transcriptia la eucariote

2. TRANSCRIPŢIA ŞI TIPURILE DE ARN

Transcripţia este primul pas în procesul de expresie al genelor. Mai precis, este vorba de sinteza unei molecule de ARN, utilizând ca informaţie ADN.

Aşa cum am văzut în capitolul referitor la strucrura chimică a acizilor nucleici, între ADN şi ARN există două diferenţe majore: riboza înlocuişte dezoxiriboza, iar uracilul înlocuieşte timina.

Sinteza ARN este, din punct de vedere chimic, tot o reacţie de polimerizare. O reacţie catalizată, de această dată, de ARN polimeraza.

Sinteza ARN prezintă numeroase asemănări cu cea a ADN:

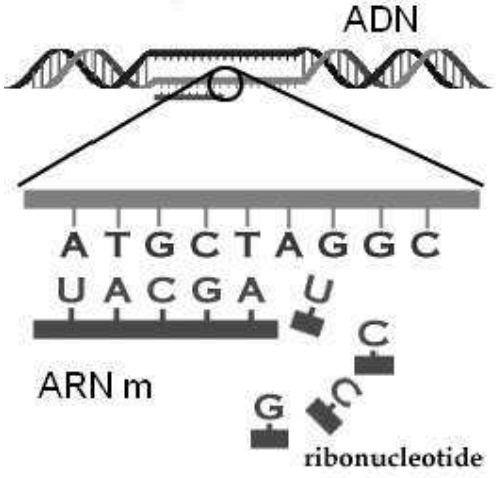
a) prezenţa nucleotidelor sub formă de ribonucleleozide 5' fosfat(ATP,CTP,GTP, TTP);

b) prezenţa unei catene de ADN ce poate fi folosită ca matriţă. Observaţi că ARN – ul se sintetizează pe baza informaţiei genetice din ADN şi nu se replică, precum acesta din urmă. Ordinea bazelor azotate din ADN determină ordinea bazelor azotate din ARN.

Spre deosebire de ADN-polimeraza, ARN-polimeraza poate iniţia sinteza *de novo* a unei catene polinucleotidice. Cu alte cuvinte, ea nu necesită prezenţa unui primer anterior sintetizat. La fel ca şi ADN-polimeraza, ataşează la carbonul 3'-OH o nouă nucleotidă, ceea ce dovedeşte că şi sinteza ARN este orientată în direcţia 5' —> 3'. Prin urmare, catena de ADN trebuie să fie orientată in direcfia 3' -> 5' pentru că *sinteza ARN este continuă.*

Ceea ce este foarte important de reţinut este faptul că, pentru sinteza unui anumit ARN, cu o anumită secvenţă de baze azotate, este folosită, ca matriţă, o singură catena din molecula de ADN. Aceasta este denumită **catena sens**, iar complementara sa - **catena antisens.** Dar, pentru sinteza tuturor tipurilor de ARN sunt folosite ambele catene ADN. Cu alte cuvinte, o catenă de ADN poate fi sens pentru un tip de ARN şi antisens pentru altul (vezi figura 10.2.).

Fig. 10. 2.Sinteza ARN- ului folosind ca matriţă ADN-ul



2. 1. TIPURI DE ARN

ARN MESAGER (ARNm)

Este cel care transcrie informaţia genetică din nucleu, de la nivelul ADN-ului şi o transportă în citoplasmă, pentru a fi tradusă (translatată) în proteine la nivelul ribozomilor.

La procariote, ARNm este utilizat direct în translaţie, fără nici o altă modificare. Spre deosebire de acestea, la eucariote, prin transcripţie, se sintetizează o moleculă de ARNm primară (transcript

primar) care suferă o serie de modifcări pentru a deveni ARNm matur. Aceste modificări poartă numele de **procesarea transcriptului primar** şi includ:

1. Adăugarea la capătul 5' a unui grup de nucleotide terminal numit **cap** ce conține guanozina modificată sub formă de metil. Capul este necesar pentru ataşarea ARNm matur la ribozomi şi inițierea translației.

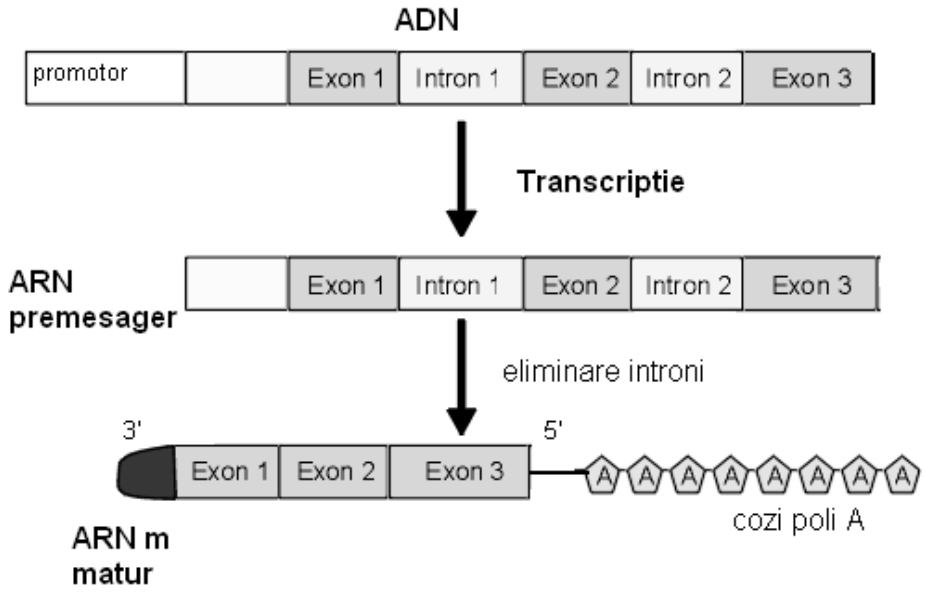
2. Adaugarea la capătul 3' a unui grup de nucleotide terminal (peste 200 de nucleotide) de tipul poliadenozina - **coada poli A**. Aceasta asigură stabilitate moleculei de ARNm la acțiunea ribonucleazelor (enzime ce degradează ARN-ul) prezente în citoplasmă.

3. Eliminarea secvențelor noninformaționale (intronilor) şi reunirea celor informaționale(exonilor). Este un proces complex cunoscut sub numele de îmbinarea ARN-ului (ARN
splicing) ce are loc la nivelul **spliceozomilor** (particule situate în nucleu formate din proteine şi câteva tipuri de ARN nuclear mic - ARNnm). Moleculele de ARNnm conțin secvențe complementare cu capetele 5' şi 3' ale intronilor şi exonilor, capete pe care,le aduc unul în apropierea celuilalt, determinând cuplarea lor şi, în final, eliminarea intronilor.Din analiza secvențelor de baze azotate din exoni şi din introni s-a constatat că există două secvențe consensus: una donor (capatul 5') şi alta acceptor (capatul 3').În figură este prezentată schematic îmbinarea a doi introni prin eliminareaintronului.În urma eliminării, intronul ia forma unui lasso şi, apoi, este fragmentat în secvențe foarte mici. Legătura care se formează la nivelul intronului, între A şi G, este una atipică; C5' de la G se atasează la C2' de la A deoarece C3'este ocupat de restul lanțului nucleotidic. La*Tetrahymena* eliminarea intronilor dintr-un precursor al ARN ribozomal este cu totul specială.Acesta se împachetează în aşa fel încât **autoelimină** intronii.Este prima dovadă că ARN-ul poate avea şi rol enzimatic, catalizând reacții chimice. Un astfel de ARN cu rol enzimatic poartă numele de **ribozime**.

Existența intronilor în transcriptul primar a fost demonstrată şi pe baza hibridărilor moleculare de tipul ADN - ARNm pentru aceeaşi genă. S-a constatat ca ADN formează din loc în loc bucle, care reprezintă secvențele noninformaționale eliminate în procesul de formare a ARNm matur.

Numărul intronilor variază foarte mult de la o genă la alta, dar, în general, eucariotele inferioare au mai puțini introni comparativ cu cele superioare. Majoritatea intronilor par să nu aibă o anume funcție, aceasta deoarece genele sintetizate artificial fără introni, au aceeaşi funcție ca şi cele cu introni. Dar, uneori, aceştia pot include secvențe reglatoare ale genei şi, deci, reglatoare ale transcripției. În orice caz, ei au un rol esențial în evoluția genelor.

Fig. 10. 3. Schema eliminării intronilor



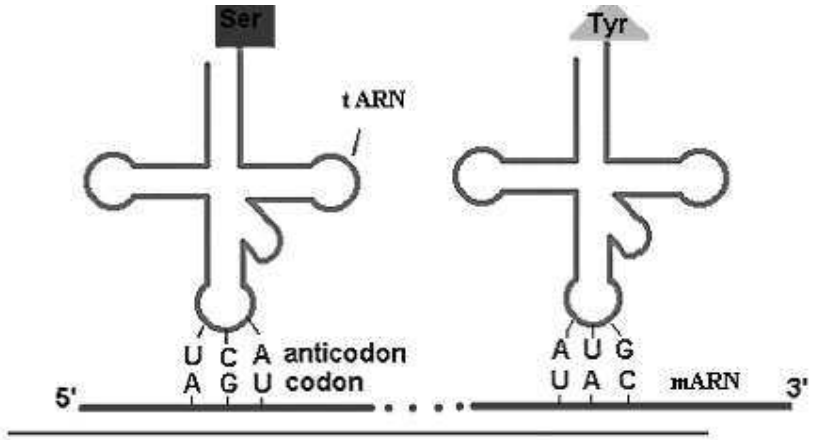
În cadrul unui ARNm matur se disting trei zone distincte: a) capătul 5' sau **liderul** care nu este folosit în translaţie şi, în anumite cazuri, determină rata acesteia; b) **secvenţa codificatoare** având între 500 şi 3000 baze azotate (în funcţie de numărul de aminoacizi din catena polipeptidică); c) capătul 3' sau **coada** care, de asemenea, nu este translatat. La procariote, majoritatea ARNm au o viaţă foarte scurtă, de câteva minute. La eucariote, în schimb, viaţa acestora este de câteva ore, deşi există variaţii mari de la câteva minute la câteva zile. Viaţa scurtă a ARNm reprezintă un alt mod de a regla activitatea unei gene.

ARN DE TRANSPORT (ARNt)

Este o moleculă mică de ARN (70-90 de nucleotide) care aduce aminoacizii la locul de sinteză a proteinelor şi, care, participă, prin domeniile sale (buclele monocatenare şi capătul 3') la patru procese distincte care, cronologic, se desfăşoară astfel:

1. ataşarea enzimei aminoacil sintetaza specifică fiecărui tip de aminoacid;
2. ataşarea unui anumit aminoacid la capătul 3' ce se termină intotdeauna cu secvenţa (CCA. ARNt care prezintă ataşat aminoacidul corespunzator se numeşte **ARNt încărcat**.
3. ataşarea la ARNribozomal din componenţa ribozomului.
4. ataşarea la codonul dm ARNm şi formarea legăturilor de H dintre codon şi anticodon.

În consecinţă pentru fiecare aminoacid esenţial, există un anumit tip de ARNt care se leagă la o anumită aminoacilsintetază şi recunoaşte un anumit codon din ARNm. Pentru a putea răspunde la toate aceste procese fiecare ARNt are o anumită structură tridimensională. În figură este prezentată configuraţia unui ARNt cu domeniile sale şi modul în care se leagă aminoacidul la capatul 3'.
Fig.10. 4. Structura ARN t



ARN RIBOZOMAL (ARNr)

Este tipul de ARN care intra în compoziţia ribozomilor, alături de proteine. Există mai multe tipuri de ARNr de mărimi diferite, cunoscute în funcţie de constanţa de sedimentare. De exemplu, la procariote, se întâlneşte tipurile 5S, 16S şi 23S (S - unitate Svedberg pentru ultracentrifugare), iar la eucariote tipurile 5S, 5,8 S, 18S şi 28S.

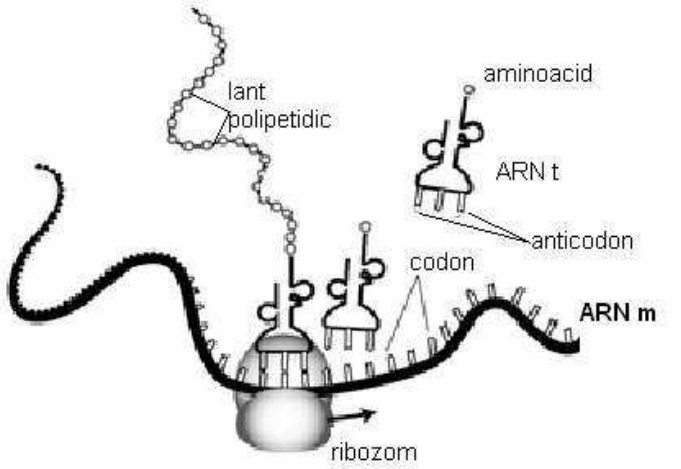
ARN NUCLEAR MIC (ARNnm)

După cum îi spune şi numele, este un ARN de dimensiuni reduse, situat în nucleu şi intră în componenţa spliceozomilor. El este implicat în procesul de eliminare a intronilor şi îmbinarea exonilor (procesarea ARNm).

3. TRANSLAȚIA

Reprezintă procesul final de expresie al unei gene, respectiv acela de sinteză a unei catene polipeptidice având drept sursă de informație ADN. Translația se desfaşoară în citoplasmă la eucariote sau în citosol la procariote dar, întotdeauna, la nivelul ribozomilor. Aşa cum am vazut, informația genetică prezentă la nivelul ADN ajunge la ribozomi sub forma codificată - ARNm.

Fig10. 5. Schema translației



Pentru a se putea iniția procesul de translatie este nevoie ca cei 20 de aminoacizi să fie gata de a participa la formarea legăturilor peptidice. Aceasta înseamnă că ei trebuie să fie ataşaţi fiecare la ARNt -ul corespunzător lui. Reacția de ataşare a fiecărui aminoacid la ARNt este catalizată de enzima **aminoacil ARN sintetaza.** Enzima trebuie să posede capacitatea de a recunoaşte atât aminoacidul cât şi ARNt-ul corespunzător. Recunoaşterea se bazează pe existența, atât la enzima, cât şi ARNt a unor conformații tridimesionale ce permit îmbinarea perfectă dintre un anumit ARNt şi o anumită aminoacil ARNt sintetază. De exemplu, leucil-ARNt-sintetaza se va putea cupla doar cu ARNt ce va transporta aminoacidul leucină şi care posedă anticodonul pentru leucină.

Ribozomii, la nivelul cărora are loc sinteza proteică, sunt alcătuiți din două subunități: subunitatea mică şi subunitatea mare. Denumirea lor este bazată pe constanța de sedimentare. De exemplu, ribozomii 70S de la *E.coli* au subunitatea mică de 30S, iar cea mare de 50S. În mod normal, atunci când ribozomii nu sunt implicați în sinteza proteică, cele două subunități sunt separate, ele unindu-se doar pentru a realiza această funcție. Prin unirea lor, în interiorul subunității mari se creează două situsuri de reacțe: **situsul peptidil** (situs P) şi **situsul aminoacil** (situs A) la nivelul cărora se vor integra ARNt încărcați cu aminoacizii corespunzători.

4. ETAPELE SINTEZEI PROTEICE

1) Inițerea catenei polipeptidice. Subunitatea mică a unui ribozom se ataşează la ARNm (matur la eucariote sau cel direct sintetizat, la procariote), la secvența **lider.** Această nouă structură este recunoscută de către subunitatea mare a ribozomului care se va ataşa şi ea, rezultând astfel, un complex format dintr-un ribozom complet şi o catenă polinucleotidică de ARNm. Ribozomul are capacitatea de a înainta pe ARNm până când, la un moment dat, întâlneşte **codonul de inițiere - AUG**. Orice ARNm, indiferent de tipul catenei polipeptidice pe care o codifică, trebuie să prezinte acest codon de inițiere. Întâlnind acest codon, ribozomul se opreşte şi

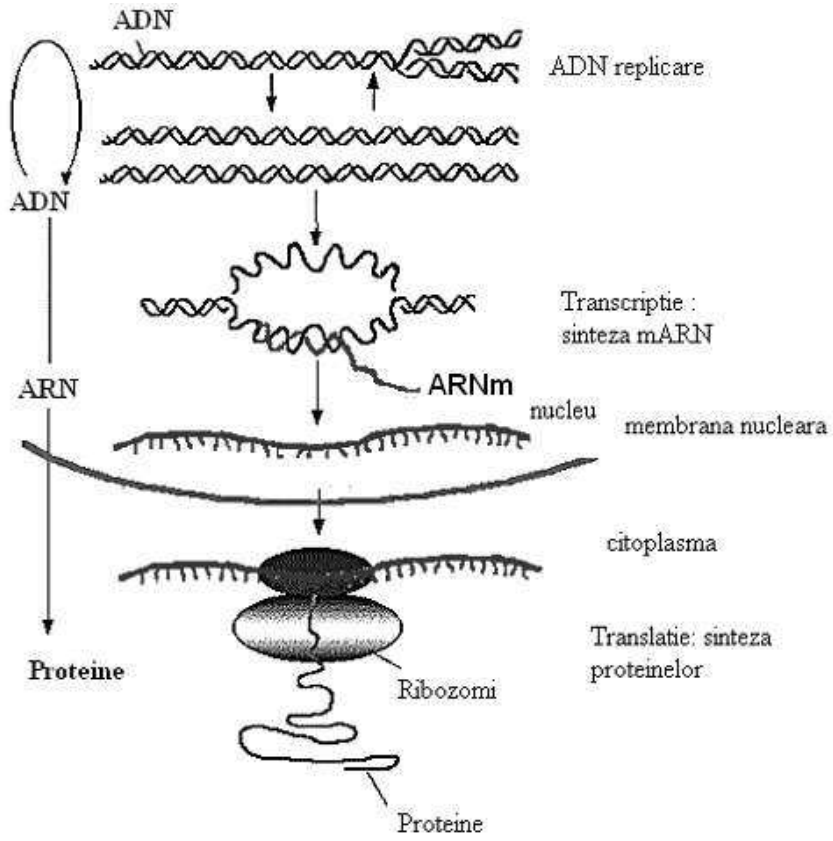
permite ataşarea la situsul A a ARNt cu anticodonul corespunzător: **UAC.** Acest ARNt este încărcat cu aminoacidul corespunzător: - **metionina.** Între bazele azotate ale codonului şi cele ale anticodonului se formează legăturile de H corespunzatoare datorită complementarității bazelor azotate.

2) Elongarea catenei polipeptidice. După ataşarea ARNt ce transportă metionina la situsul A, ribozomul înaintează din nou pe ARNm. Astfel, încât ARNt-Metionina se mută în situsul P, situsul A ramânând liber. Aici se va integra următorul ARNt ce corespunde din punct de vedere al anticodonului (în figură, ARNt ce transportă prolina şi are anticodonul GGC). Se constată că, acum, ambele situsuri sunt ocupate cu câte un ARNt ce transportă câte un aminoacid. Între aceştia din urmă se formează legatura peptidică (COOH de la metionină şi NH_2 de la prolină). Formarea acestei legături nu mai permite medoninei să rămână ataşată şi la ARNt-ul care a transportat-o, motiv pentru care aceştia se separă. ARNt pentru metionină, rămânând fără aminoacid părăseşte situsul P. La situsul A rămâne ARNt cu prolina dar, de care, acum este legată şi metionina prin legatura peptidică. Ribozomul se deplasează pe ARNm cu încă o tripletă de nucleotide astfel încât conformația inițial prezentă în situsul A ajunge în situsul P. Situsul A rămâne din nou liber pentru ataşarea următorului ARNt şi aşa mai departe. Elongarea reprezintă de fapt, un ciclu de evenimente prezentate mai sus care se repetă din nou şi din nou, până când se ajunge la codonul de terminare a sintezei proteice.

3) Terminalizarea catenei polipeptidice. În ARNm există trei triplete de baze azotate: **UAA, UAG** şi **UGA** pentru care nu există nici un ARNt cu anticodonul corespunzător. Aceste triplete se numesc **codoni stop.** În momentul în care ribozomul ajunge pe ARNm la nivelul lor, nemaiexistând nici un ARNt care să aducă un alt aminoacid, nu se mai formează o altă legatură peptidică şi, în consecință, sinteza proteică încetează. Catena polipeptidică este eliberată, iar cele două subunități ribozomale se separă de ARNm.

Translația prezintă o caracteristică importantă şi anume, aceea că are loc într-o anumită direcție. Primul aminoacid are liber radicalul **NH_2,** iar ultimul are liber radicalul COOH. În figura de mai jos (fig.10.6) este ilustrat procesul de expresie al unei gene ținând cont de orientările transcripției şi translației.

Fig. 10. 6. Dogma centrală a geneticii



Rezumat: Rolul genetic al acizilor nucleici; Transcripția şi tipuri de **ARN;** Tipuri de ARN; Translația; Etapele sintezei proteice

Test autocontrol:

52.	Procesul de sinteza proteica se realizeaza la nivelul:	a) citoplasmei, ribozomilor
		b) nucleului
		c) transcriptia in nucleu, iar translatia in citoplasma

Raspunsuri teste:

1 c	**14 a**	**27 b**	**40 c**
2 b	**15 c**	**28 b**	**41 b**
3 a	**16 c**	**29 c**	**42 b**
4 c	**17 b**	**30 c**	**43 b**
5 b	**18 a**	**31 a**	**44 a**
6 a	**19 b**	**32 b**	**45 c**
7 c	**20 a**	**33 c**	**46 a**
8 b	**21 c**	**34 c**	**47 c**
9 c	**22 b**	**35 a**	**48 a**
10 c	**23 c**	**36 b**	**49 c**
11 a	**24 c**	**37 a**	**50 b**
12 b	**25 a**	**38 c**	**51 b**
13 b	**26 a**	**39 c**	**52 c**

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Anghel, I., 1979, *Citologie vegetală,* Ed. Didactică şi Pedagocică, Bucureşti.
2. Anghel, I., Toma, I., 1987, *Cromozomii,* Ed.Ştiinţifică şi Enciclopedică, Bucureşti.
3. Arlett, C.F., 1986, *DNA repair defects,* J. Inherit, Metabol, 64.
4. Badea, E., Răduţoiu, S., Nicolae, I., Raicu, P., 2000, *Genetica-genetică moleculară şi inginerie genetică,* Ed. Bioterra, Bucureşti.
5. Badea, E., Verzea, M., Raicu, P., 1993, *Influence of phytohormones on the genom number variation at the angrogenetic plants in Datura innoxia,* 23rd annual Meeting of the European Environmental Mutagen Society, Barcelona.
6. Badea, E., Raicu, P., 1983, *Experimental androgenesis in Datura innoxia plants with different levels of plody,* Rev. Roum. Biol. Veget. 28.
7. Brooker, R. J., 2000, *Genetica. Analisi e principi*, Zanichelli.
8. Botez, C., 1991, *Genetica,*Tipo Agronomia, Cluj-Napoca.
9. Brackdorff, N., 1984, *L'inactivation du chromosome X,* La Recherche, Vol. 25, 136-141.
10. Butnaru, G., 1985, *Genetica, vol.I,* Lito IAT, Timişoara.
11. Butnaru, G., şi colab., 1999, *Genetică moleculară*, Ed. Mirton.
12. Butnaru, G., Gustafson, J. P., 1998, *Cercetări de genetică vegetală şi animală, vol. V*, 121.
13. Casian, H., 2006, *Genetica suport pentru curs,* Ed. Printech.
14. Cârlan, M., 1996, *Elemente de genetică animală normală,* Polirom, Iaşi.
15. Cech, T. R., 1986, *R.N.A. as an enyzme,* Scientific American, 255, 64-75.
16. Chambon, P., 1980, *Genome des eucaryotes. Gène,* Encyclopedia Universalis, Suppl. I.
17. Chase, S. S., 1951, *Corn monoploids. Maize genetic,* Coop. News Letter 25.
18. Cohen, S. N., 1985, Scientific American, 42, 162.
19. Coles, N., 1969, *Contribuţii la studiul corelaţiilor dintre carcterele cantitative la grâu ca expresie a fenomenului heterozis.* În Analele Univ. Craiova.
20. Crăciun, T., şi colab., 1978, *Genetica*, Ed. Didactică şi Pedagogică, Bucureşti.
21. Crăciun, T., 1981, *Genetica plantelor horticole*, Ed. Ceres, Bucureşti.
22. Crick, F. C. H., 1979, Science, 204.
23. Drăcea, I., Butnaru, G., 1979, IAT, Timişoara.
24. Dyer, B. D., Obar, R., 1985, *The origin of eucaryotic cells,* Van Nonstrand Reinhold, Co., N.Y.
25. East, E. M., 1936, *Heterosis genetics*, 21.
26. Ellis, N. A., 1991, *The human Y-cromosom,*Developmental Biology, vol.2, 231-240.
27. Falconer, D. S., 1967, *Introduction to cantitative genetics*, Oliver and Boyt LDT, Edinburg and London.
28. Gardner, E. J., 1968, *Principles of genetics 3rd ed.,* J. Wiley and Sons Inc. New York,.
29. Gaul, H., 1961, *Use of induced mutans in seed – propagated species*, In. symp. Mutation and Plant Breeding Nat. Acad. Sci. Wash., 891.
30. Giosan, N., Nicolae, I., Sin, Gh., 1986, *Soia*, Ed. Academiei RSR, Bucuresti.
31. Gorenflot, R., Raicu, P., 1980, *Cytogénétique et évolution,* Masson, Paris.
32. Hartl ,D. L., Jones, E., 2000, *Genetica. Principi e applicazioni*, Editoriale Grasso.
33. Hertzog, Z., 1996, *Elemente de genetică moleculară,* Ed. Didactică şi Pedagogică, Bucureşti.
34. Jinx, J. L., 1964, *Extrachromosomal inheritance*, Englewood Cliffs, N. J., Prentice Hall.
35. Johannsen, W. L., 1911, *The genotype conception of heredity*, Am. Nat. XLV.
36. Lantieri, M., 1990, *Le sex des chromosomes*, Science et vie, LV.
37. Lewis, E. B., 1951, *Pseudoallelism and gene evolution*, Cold Spring Harbor Symp., Quant. Biol., 16.

38. Lewin, B., 1994, *Genes,* Oxford University Press, Oxford.
39. Lints, F., 1991, *Génétique,* Office Int. De Libraire, Bruxelles.
40. Manoliu, M., Pârvu, Th., 1973, *Genetica*, Lito IANB.
41. Mather, K., 1949, *Biometrical genetics*, Dover Publications, New York.
42. Maximiliam, C., Doina, I., 1986, *Genetică medicală*, Ed. Medicală.
43. Michaelis, P., 1959, *Cytoplasmic iheritance and the segregation of plasmagenes*, Proc. X Int. Congr. Genet. Montreal, 375.
44. Mullis, K. B., 1990, *The unusual origin of the polymerase chain reaction,* Scientific American, 262, 56-65.
45. Nicolae, I., 1976, *Genetique*, Edit. INRA Alger.
46. Nicolae, I., 1978, *Mutageneza experimentală*, Ed. Ceres Bucureşti.
47. Nicolae, I., 1990, *Genetica (cursuri de sinteză, exerciţii, probleme)*, Lito. IANB.
48. Nicolae, I., Nasta, A., 1975, *Radigenetica*, Ed. Ştiinţifică şi Enciclopedică, Bucureşti.
49. Nicolae, I., Răduţoiu, S., Butnaru, G.,Nicolae, F., 2000, *Genetica- principii de bază ale eredităţii,* Vol. I, Ed. Bioterra, Bucureşti.
50. Nilsson – Ehle, H., 1909, *Kreuzungsuntersuchungen an Hafer und Weizen*, Lunds. Univ. Arssker. Ser. 2,5.
51. Ohno, S., 1969, *Chromosomes sexueles et genes lies au sexs*, Gauthier Villars, Paris.
52. Ohno, S., 1978, *Major sex determining genes,* Springer-Verlag.
53. Pamfil, C., 1983, *Ereditatea sexelor*, Ed. Dacia, Cluj Napoca.
54. Popescu Vifor, St., 1978, *Genetica animală*, Ed. Ceres, Bucureşti.
55. Raicu, P., 1991, *Genetica*, Ed. Didactică şi Pedagogică, Bucureşti.
56. Raicu, P., 1967, *Genetica*, Ed. Didactică şi Pedagogică, Bucureşti.
57. Raicu, P., şi colab., 1998, *Genetică moleculară şi inginerie genetică*, Ed. Bioterra.
58. Raicu, P., Stoian, V., Nicolăescu, M., 1974, *Mutaţiile şi evoluţia,* Ed. Enciclopedică, Bucureşti.
59. Raicu, P., 1984, *Inginerie genetică,* Ed. Ştiinţifică şi Enciclopedică, Bucureşti.
60. Russel , P.J., 1998, *Elementi di Genetica*, EDISES.
61. Russel, P. J., 1998, *Genetica*, EDISES.
62. Savatti, M., şi colab., 1994, *Cercetări de genetică vegetală şi animală vol. III*.
63. Scharp, P. A., 1985, *On the origin of RNA splicing and introns,* Cell, 42, 397-400.
64. Stary, A., Sarasin, A., 1994, *Les defauts de reparation de l'ADN,* La Recherche, vol. 25, 448-449.
65. Tamaş, Elena., 1999, Agricultura, nr. 1 (29).
66. William, S., 1977, *Genetique. Cours et problemes*, Mec. Graw – Hill, Inc. New York.